

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA HUAMANA

UNIDAD DE POSGRADO

**Evaluación de la deficiencia de vitamina A en niños menores de 5 años
con infecciones respiratorias y diarreicas agudas por el método de
citología de impresión conjuntival (CIC)**

TESIS

**Para optar el Grado Académico de Magister en Nutrición con
Mención en aspectos biológicos**

AUTOR

Hilda Paitanmala Montero

Lima – Perú

2012

Dedicatoria: A mis queridos Padres

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración de las siguientes personas e instituciones en la realización del presente trabajo:

Oficina de Capacitación Docencia e Investigación del Hospital Nacional E. Rebagliati M. por su constante supervisión y apoyo económico.

Personal de la División de Estadística e Informática – HNERM.

Dr. Jesús Navarrete S. Quien en su rol de maestro me acompañó en el desarrollo del método de CIC.

C.E.I. Modelo ESSALUD en persona de su Directora Sra. Melva Rubianes Shoreder y enfermera Sra. Jovita Valle Cisneros.

Personal del Departamento de Anatomía Patológica: Sr. Juan Exebio (Tecnólogo) por su apoyo en el montaje de la Técnica de coloración de la CIC.

Mis Profesores:

Dr. César Mendiola, Oftalmólogo del INO.

Dr. Moisés Hernández F., Especialista II –

INHA – Cuba.

Mis pacientes y sus padres; que aceptaron colaborar con el estudio.

INDICE

| | |
|--|----|
| CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Situación Problemática..... | 1 |
| 1.2 Formulación del Problema..... | 4 |
| 1.3 Justificación..... | 5 |
| 1.4 Objetivos. | 6 |
| Generales..... | 6 |
| Específicos..... | 6 |
| CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO..... | 7 |
| 2.1 Antecedentes de la investigación. | 7 |
| 2.2 Bases Teóricas..... | 11 |
| CAPITULO 3: METODOLOGÍA..... | 24 |
| 3.1 Población de Estudio..... | 24 |
| 3.2 Instrumentos de Recolección de Datos | 28 |
| 3.3 Técnica de Tinción y Montaje..... | 30 |
| CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 40 |
| 4.1 Análisis, Interpretación y Discusión de Resultados | 40 |
| 4.2 Prueba de Hipótesis | 44 |
| 4.3 Presentación de Resultados..... | 51 |
| CONCLUSIONES | 62 |
| RECOMENDACIONES | 63 |
| BIBLIOGRAFÍA | 64 |
| ANEXOS..... | 68 |

RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

| | Pág. |
|---|-------|
| TABLA N° 1. Casos estudiados según sexo, edad, estado nutricional y CIC en niños sanos..... | 52 |
| TABLA N° 2. Casos estudiados según sexo, edad, estado nutricional y CIC en niños enfermos..... | 53 |
| TABLAS N° 3 y N° 4. Resultado de CIC en relación a edad y sexo en niños sanos..... | 54 |
| TABLAS N° 5 y 6. Resultado de CIC en relación a edad y sexo en niños enfermos..... | 55 |
| TABLA N° 7. Frecuencia observada según enfermedad estudiada..... | 56 |
| TABLA N° 8. Resultado de CIC en niños enfermos según enfermedad estudiada | 57 |
| TABLA N° 9. Casos estudiados en grupos de niños sanos y enfermos y resultado de CIC..... | 58 |
| Figura 1. Preparación de la lámina..... | 35 |
| Figura 2. Técnica de Tinción y Montaje..... | 36-37 |

FOTOGRAFIAS

| | |
|--|----|
| Muestra fotográfica de CIC de un niño sano..... | 38 |
| Muestra fotográfica de CIC de un niño enfermo..... | 39 |

GRAFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico1. Resultado de CIC en 103 Niños menores de 5 años. | 45 |
| Gráfico2. CIC de Niños de Grupo Control..... | 59 |
| Gráfico3. CIC de Niños Hospitalizados con IRA y EDA..... | 60 |
| Gráfico4. Presentación de CIC por Patología General..... | 61 |
| Gráfico 5. Presentación de CIC por Enfermedades..... | |

“EVALUACIÓN DE LA DEFICIENCIA DE VITAMINA A EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS CON INFECCIONES RESPIRATORIAS Y DIARREICAS AGUDAS POR EL MÉTODO DE CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL (CIC)”

RESUMEN

Introducción: La deficiencia de vitamina A (DVA) es un problema de salud pública en países pobres y afecta principalmente a niños pequeños. La manifestación clínica más frecuente de la DVA es la ceguera nocturna y cambios en el epitelio ocular, que se denominan Xeroftalmía. Estos cambios pueden evaluarse en forma precoz mediante un método de diagnóstico conocido como Citología de Impresión Conjuntival (CIC). **Objetivo:** Determinar la DVA en niños menores de 5 años con el método de CIC. **Diseño:** Estudio descriptivo, transversal con muestreo probabilístico. **Institución:** Servicio de Pediatría del Hospital Nacional E. Rebagliati M. y Centro de Educación Inicial (CEI) Modelo, de Essalud. **Participantes:** 103 niños menores de 5 años, en el periodo setiembre-99 a febrero 2000. **Intervenciones:** La población de estudio se distribuyó en dos grupos; uno constituido por 45 niños sanos del CEI Modelo y el otro constituido por 58 niños enfermos que fueron hospitalizados por infección respiratoria aguda (IRA) o por enfermedad diarreica aguda (EDA). **Principales medidas de resultados:** Índice nutricional Peso/Talla (P/T), CIC normal y CIC anormal. **Resultados:** El estado nutricional se midió mediante el indicador P/T resultando adecuado o normal en 68.9% de niños sanos, y en 86.2% de niños enfermos. Se encontró niños con sobrepeso en el grupo de sanos (31.1 %) y en el grupo de enfermos (3.4 %). Los niños menores de 2 años fueron los más afectados por IRA y EDA, en 60.3% de casos; y dentro de las IRA se presentaron con mayor frecuencia la neumonía y bronconeumonía, en 45.7 %. El método CIC se aplicó a todos los niños estudiados y resultó **anormal** en 4.4 % de los niños sanos y en 63.8 % de los niños hospitalizados por IRA y EDA; encontrándose asociación estadística significativa ($p < 0.05$) al comparar ambos grupos de niños respecto al resultado de CIC. **Conclusiones:** El hallazgo de CIC **anormal** con mayor frecuencia en los niños hospitalizados por IRA y EDA sugiere evidencia de DVA en estos pacientes. **Palabras clave:** Método CIC, infección respiratoria aguda, enfermedad diarreica aguda, niños menores de 5 años, deficiencia de vitamina A.

"ASSESSMENT OF VITAMIN A DEFICIENCY IN CHILDREN UNDER THE AGE OF 5 WITH ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS AND DIARRHOEA BY THE METHOD OF CONJUNTIVAL IMPRESSION CITOTOLOGY (CIC)"

SUMMARY

Introduction: The vitamin A deficiency (VAD) is a problem of public health in poor countries and this affects especially infants and toddlers. The clinical manifestation more frequent of VAD is night blindness and change in the ocular epithelium that these name Xerophthalmia. These processes may be assessed precociously with the method of conjunctival impression cytology (CIC). **Objectives:** To determine VAD in children under 5 years of age by method of CIC. **Design:** Descriptive, transversal study with probability sampling. **Institution:** Department of Pediatrics at National Hospital E. Rebagliati M. and Model CEI, both from Essalud. **Participants:** 103 children under 5 years of age in the period between September-99 and February 2000. **Interventions:** The study population was distributed into two groups; one consisting of 45 healthy children of Model CEI, and the other consisting of 58 children ill, hospitalized in the Department of Pediatrics at Rebagliati Hospital with acute respiratory infection (ARI) and acute diarrhea (AD). **Main outcome measures:** Nutritional index Weight/Height (W/H), normal CIC, abnormal CIC. **Results:** Nutritional status was assessed index W/H resulting in adequate or normal in 68.9 % of healthy children and 86.2 % of sick children. Overweight children were found in the healthy group (31.1 %) and the group of sick (3.4 %). The children under two years old were the most affected by ARI and AD, by 60.3 %; and inside of ARI occurred more frequently pneumonia and bronchopneumonia, by 45.7 %. The method CIC was applied to all children studied, and was abnormal in 4.4 % of healthy children and in 63.8% of children hospitalized by ARI and AD, founding a statistically significant association ($p < 0.05$) when comparing both groups of children regarding the outcome of CIC. **Conclusions:** The finding of abnormal CIC mainly in hospitalized children by ARI and AD suggests that there is evidence of VAD in them. **Key words:** CIC method, acute respiratory infections, acute diarrhea, children under the age of 5, vitamin A deficiency.

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 SITUACIÓN PROBLEMÁTICA

La vitamina A es un nutriente esencial que participa en diversos procesos fisiológicos del ser humano, relacionados con la visión, el crecimiento, la diferenciación celular, la hematopoyesis y la reactividad del sistema inmunitario (Olson, James A. 1997).

El requerimiento de vitamina A es más evidente en los tejidos de rápida renovación, especialmente en el epitelio respiratorio, gastrointestinal, tracto genitourinario y el epitelio de la conjuntiva y de la córnea. La deplesión experimental de vitamina A produce metaplasia escamosa del epitelio nasal, de la traqueofaringe y bronquios, con pérdida de células ciliares y secretoras de mucus. La pérdida de la capa mucociliar, que normalmente protege la superficie epitelial, tiene consecuencias negativas en la defensa del pulmón: invasión de las vías respiratorias por patógenos, reducción de la secreción de anticuerpos por la mucosa (en especial Ig A) y mayor adherencia de bacterias y virus al epitelio dañado. Son escasos los estudios similares en el hombre. Los niños deficientes en vitamina A fallecidos con bronconeumonía, presentan marcada metaplasia escamosa en la laringe, tráquea y bronquios y una infiltración difusa del epitelio respiratorio (Villavicencio Núñez, M. 1996).

Las investigaciones más importantes sobre la relación entre la deficiencia preexistente de vitamina A y la incidencia de infecciones respiratorias y diarrea se han realizado en el continente asiático. Sommer y asociados

(1996) en Indonesia, realizaron estudios en 4600 niños de edad pre escolar; encontrando que los niños con ligera xeroftalmía tenían mayor propensión a desarrollar infecciones respiratorias e intestinales en relación a los niños que eran normales al examen ocular.

La vitamina A controla la diferenciación de las células epiteliales mediante el control de la producción de mRNA para la queratina y también favorece la síntesis del DNA en los núcleos.

Además del papel que cumple en la visión, la vitamina A interviene en muchos otros procesos fisiológicos: espermatogénesis, desarrollo fetal, respuesta inmunológica, el gusto, la audición, el apetito y el crecimiento. Casi todos ellos dependen directa o indirectamente de la diferenciación celular. Las acciones de la vitamina A sobre estos procesos específicos y los efectos de su deficiencia, han sido concienzudamente revisados por Olson J. y asociados (1997)

El compromiso de la conjuntiva en la deficiencia de vitamina A puede evaluarse en forma fácil y precoz. El indicador más útil en los niños pequeños son las manchas de Bitot, éstas son el equivalente macroscópico de la metaplasia escamosa del epitelio conjuntival, en las que las células epiteliales normales son reemplazadas por células queratinizadas. Estas manchas son acumulaciones blancas, espumosas de células desprendidas, que aparecen en el cuadrante temporal de la conjuntiva. Después de la administración de vitamina A las manchas suelen desaparecer.

Existe una nueva técnica de análisis: la Citología de Impresión Conjuntival (CIC) que proporciona una forma fácil de evaluación y detección temprana de los cambios histológicos iniciales en las conjuntivas oculares. Amedee-Manesme O., Wittpenn J., Gadomsky A., Kjolhede C. (1989)

Existen estudios preliminares realizados por J. Wittpenn; Tseng y Sommer (1986) para la detección temprana de la xeroftalmia por el método de Citología de Impresión Conjuntival (CIC) en los que se demostró la eficiencia del método para la detección precoz de la deficiencia de la vitamina A.

El epitelio conjuntival es un tejido estratificado no queratinizado que incluye células secretoras de mucina intercaladas, denominadas células Goblet , que son responsables de la humedad de la superficie ocular externa. La mayor densidad de estas células se encuentra en la porción bulbar de la conjuntiva temporal. Gypson Y., Joyce N. (2000).

Además de la deficiencia clínica, existe en el mundo más de 100 millones de niños con insuficiencia de vitamina A. Las tasas mortalidad y de infecciones graves de estos niños son muy superiores a las de las que tienen cantidades suficientes de vitamina A. Olson J. (1997); Sommer A. (1996).

A medida que la deficiencia grave de vitamina A se reduce, el estado de insuficiencia está tomando mayor importancia para los programas de Salud Pública de todo el mundo. El estado de insuficiencia de vitamina A suele asociarse a malnutrición calórico proteica; ingestas pobres de lípidos, síndrome de mala absorción de grasas y a las enfermedades febriles.

El estado de insuficiencia de vitamina A, conocido actualmente como estado marginal o deficiencia preclínica puede evaluarse con procedimientos relativamente nuevos, entre los que destaca el método de Citología de Impresión Conjuntival (CIC) V Underwood B. Olson J. (1993)

Es de interés especial que el método de CIC sea un parámetro en nuestro medio para demostrar estados marginales de deficiencia de vitamina A. Siendo nuestro objetivo principal utilizar el método de CIC para evaluar estados de deficiencia subclínica de vitamina A en niños menores de 5 años.

El presente trabajo pretende demostrar que los niños pequeños, menores de 5 años afectados con infecciones respiratorias y diarreicas agudas tienen una alta probabilidad de tener CIC anormal; lo que estaría relacionado a una deficiencia de vitamina A.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

Las enfermedades diarreicas junto con las enfermedades respiratorias agudas constituyen un 28% de las causas de mortalidad infantil en los países subdesarrollados (OMS, 2008) y son el motivo más frecuente de consulta médica pediátrica. La ocurrencia de estas infecciones puede verse condicionada por un bajo peso al nacer, lactancia materna insuficiente, esquema incompleto de vacunación y/o deficiencia de vitamina A (MINSA, 2005).

En nuestro País, la incidencia de infección respiratoria aguda en niños menores de 3 años es de 17% y un 18% tuvo por lo menos un episodio de diarrea. (ENDES, 2009)

Nuestra investigación asocia la deficiencia de vitamina A y la presentación de IRA y EDA en niños menores de 5 años, que motivaron su hospitalización. Del mismo modo se relaciona la deficiencia de vitamina A en niños menores de 5 años sanos.

Ante lo expuesto encontramos el siguiente problema:

¿Cómo es la deficiencia de vitamina a en niños menores de 5 años con infecciones respiratorias y diarreicas agudas por el método de Citología de Impresión Conjuntival (CIC)?

1.3 JUSTIFICACIÓN.

Esta investigación nos permitirá establecer una relación entre el estado de la vitamina A en el organismo de los niños con infecciones respiratorias agudas (IRA) y con enfermedad diarreica aguda (EDA), y tiene transcendencia además por la utilización del método de citología de impresión conjuntival (CIC), que es un método reconocido y de fácil aplicación en niños pequeños, que sólo necesita células epiteliales de la mucosa conjuntival para establecer mediante el estudio de éstas la presencia de la vitamina A en los niños sujetos de estudio.

Los beneficiarios de nuestra investigación son los niños menores de 5 años que padecen de IRA o EDA. Estos niños serán tratados con el método de citología de impresión conjuntival, donde se podrá establecer mediante este procedimiento la presencia de vitamina A teniendo un grupo de control, que nos servirá de referencia con relación al grupo experimental.

Hay pocos estudios que demuestran la relación de la vitamina A y estas enfermedades tan frecuentes en nuestro medio, y más aún en zonas de pobreza extrema. Entonces esta investigación servirá para conocer en mayor medida la importancia de esta vitamina en la prevención y mejora de la salud de los niños en edades con mayor riesgo de estas enfermedades.

1.4 OBJETIVOS.

Generales

Determinar el estado de la vitamina A en niños menores de 5 años con infecciones respiratorias y diarreicas agudas por el método de Citología de Impresión Conjuntival (CIC).

Específicos

- Evaluar el estado de la vitamina A en niños menores de 5 años con infecciones respiratorias agudas (IRA) con el método de CIC.
- Evaluar el estado de la vitamina A en niños menores de 5 años con enfermedad diarreica aguda (EDA) con el método de CIC.
- Evaluar el estado de la vitamina A en niños menores de 5 años sanos con el método de CIC.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.

En Amayaet.al. (1986) investigación realizada en Zulia, se encuentra:

Se realizó un estudio transversal para estimar la prevalencia de deficiencia de vitamina A (DVA) y desnutrición proteico-energética en una población infantil (24 a 85 meses) de tres barrios marginales urbanos de Maracaibo, Estado de Zulia, Venezuela (n=173) y de una zona rural (n=34), vecina a Maracaibo, por medio del análisis del retinol sérico y mediciones antropométricas, aplicando puntuación Z a los indicadores Talla/Edad (ZT/E); Peso/Edad (ZP/E) y Peso/Talla (ZP/T), comparando con valores de referencia del NCHS-OMS. La condición socio-económica marginal se confirmó aplicando el método de Graffar modificado para Venezuela por Méndez Castellano (1986). Para el análisis del retinol sérico se extrajo sangre venosa periférica aplicando HPLC según la técnica de Bieri et al. 1979. Los valores se reportaron en $\mu\text{g/dl}$. El análisis estadístico de los datos se procesó por programas computarizados EpiInfo 2000, versión 1.0 y SAS versión 6.0 (1996). La prevalencia de DVA (retinol sérico $< 20 \mu\text{g/dL}$) en la población total (n=207) fue de 22,2%, siendo mayor en la población urbana que en la rural (22,5% vs 20,5%). La evaluación antropométrica reveló que el 27,4% de los niños sufrían de desnutrición (puntuación Z = -2 a > -3 DE), presentando el 15,4%, detención del crecimiento, el 9,6% déficit de peso y el 2,6% consunción o desnutrición proteico-energética aguda. No se detectó desnutrición severa ni sobrepeso. Con ZT/E, el 54,6% de los niños

mostraban nutrición adecuada; sin embargo el 23% de ellos presentaba DVA. En los niños a riesgo de desnutrición crónica (puntuación $Z = -1$ a > -2 DE), el 20,9% sufría de DVA; y de los niños desnutridos, el 21,9% tenían déficit del micronutriente. Con ZP/E el 60,3%, 29,9% y 9,1% de los niños estaban adecuadamente nutridos, con riesgo de desnutrición, y desnutridos, respectivamente. De cada grupo, el 25,6%, 17,7% y 15%, respectivamente presentaban DVA. La puntuación Z de P/T reveló que 87,4%, 10,4% y 2,4% de los niños presentaban buena nutrición, con riesgo, y desnutrición proteico-energética aguda, respectivamente. En los tres grupos, 22,1%, 23,8% y 20%, respectivamente, sufrían de DVA. Estos resultados indican que la DVA coexiste indistintamente en niños adecuadamente nutridos como en los malnutridos. Nuestros resultados de prevalencia de DVA y los de otros de Venezuela, son mayores a los establecidos por la OMS y OPS para indicar problema de salud pública que requiere inmediata intervención masiva a la comunidad infantil, la cual si no es realizada a tiempo, ante cualquier proceso infeccioso, la DVA se agrava, aumentando las consecuencias ampliamente conocidas.

Investigaciones operativas sobre el control de las infecciones respiratorias agudas (IRA) que realiza la OMS en Brasil a cargo de Benguigui (2000) establece como conclusiones:

La investigación técnica y operacional sobre IRA permite obtener las informaciones necesarias para programar, evaluar y corregir las deficiencias, así como mejorar las estrategias del programa.

La prioridad actual es la implantación rápida de actividades normalizadas y la instrucción de las familias sobre los servicios generales de salud, con el fin de reducir la tasa de mortalidad e instituir prácticas adecuadas para el manejo de los casos por parte del personal de salud y de la comunidad.

Otra de las investigaciones relacionada es la de Allende (1997) quien investiga efectos del retinol (vitamina A) en la activación de linfocitos T humanos y sus implicaciones terapéuticas:

El término retinoide engloba un grupo de compuestos que incluye al ácido retinoico (AR), el retinol (ROL) y una serie de derivados naturales y sintéticos que presentan actividad tipo vitamina A.

Los retinoides en general ejercen funciones muy importantes en la regulación, diferenciación y homeostasis del desarrollo de vertebrados; además, cada vez se implican más a estas moléculas en el desarrollo y maduración de gran variedad de tipos celulares (incluidas las del sistema inmune), así como en el tratamiento de diversas patologías: cáncer, enfermedades dermatológicas e inmunodeficiencias.

Mediante el estudio de la proliferación celular en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs), se ha analizado el papel del ROL en linfocitos previamente activados con un amplio panel de mitógenos. Se ha utilizado tanto ROL como AR observándose un mayor efecto del ROL, se ha estandarizado la concentración óptima de ROL y cual es el momento adecuado de la adición del mismo. El efecto observado es realmente un aumento de proliferación celular y no una disminución de la posible apoptosis inducida al estimular vía CD3. Uno de los mecanismos por los que el ROL modula la mitogénesis a través de CD3, es la inducción de la producción de IL-2 e IEN- γ en PBMCs estimuladas previamente con anticuerpos monoclonales anti-CD3. No se han observado efectos aditivos del ROL sobre la síntesis de otras citocinas como IL-4, 1-6, It-10 lo que claramente sugiere un perfil de activación tipo Th1.

Además, las PBMCs que se estimularon con anticuerpos anti-CD3 y posteriormente con ROL han mostrado un aumento de porcentaje de

expresión y de densidad celular en diversos marcadores de activación de células T (CD18, CD45RO, CD25). El aumento de expresión de estos marcadores está en relación con la existencia de regiones de unión de retinoides sobre los promotores de los genes de estas moléculas.

Por último, se ha estudiado el efecto del ROL sobre linfocitos T activados de diferentes inmunodeficiencias encontrándose que sólo en aquellos casos en que la vía de activación del CD3 se encuentra intacta, el efecto del ROL persiste. Estos hallazgos permiten plantear su uso terapéutico en determinadas inmunodeficiencias.

Encontramos dentro de las investigaciones, aquella que se hiciera en Inglaterra por Chen H, (2007), quien realiza la investigación de uso de la Vitamina A para la prevención de las infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores (IAVRI) en los niños de hasta siete años de edad, donde concluyeron:

Este resultado inesperado se escapa de la comprensión actual del uso de la vitamina A para evitar las IAVRI. En consecuencia, no se debe administrar vitamina A a todos los niños para evitar las IAVRI. Existen pruebas de que los suplementos de vitamina A pueden evitar las IAVRI en los niños con retinol sérico bajo o los niños con un estado nutricional deficiente.

Otros estudios en Latinoamérica, evaluando reactantes inflamatorios han tratado de explicar la poca respuesta de los epitelios en las infecciones respiratorias y gastrointestinales o la alteración de los mecanismos inmunoreguladores en niños con deficiencia de vitamina A (DVA):

Leal J, Castejon H & Romero T (2004): En niños que tenían DVA por método de CIC se encontró valores séricos bajos ($p < .003$) de IL-10 comparada con el grupo control.

Leal JY et al (2006): Los niños con DVA y anemia mostraron niveles de interferón gamma e IL-10 más bajos que los otros grupos, esto podría explicarse por alteración en la formación de células eritroides en los niños deficientes.

2.2 BASES TEÓRICAS

Vitamina A

En Egipto, hacia el año 1500 a. C. se describió por vez primera la ceguera nocturna. Si bien la enfermedad no se relacionó con una deficiencia en la dieta, se recomendaba ingerir hígado asado o frito.

Durante la Primera Guerra Mundial se reconoció que las deficiencias clínicas y experimentales de vitamina A estaban relacionadas, cuando quedó de manifiesto que la xeroftalmía en seres humanos dependía de una disminución del contenido de grasa en la dieta.

La vitamina A es muy importante para el ser humano, pues es un nutriente esencial que lo encontramos de dos formas el de origen animal que está pre formada y la llamamos retinol, luego tenemos la de origen vegetal la cual es provitamina A y son llamados carotenos o carotenoides. Los Beta carotenos los encontramos en las verduras de color rojo, anaranjado y amarillo; así como las hortalizas de color verde oscuro y es requerida por el cuerpo de manera esencial. Encontramos también que casi un 90% de la vitamina A extraída de origen animal retinol es absorbida por nuestro organismo, mientras que los carotenos son absorbidos en un 60% a 40%, cabe mencionar que la vitamina A almacena en el hígado, así como en los pulmones, riñones y grasa corporal.

El término vitamina hace referencia a sustancias orgánicas complejas que deben estar presentes en la dieta, en muy pequeñas cantidades, pero que

son esenciales para la vida. Las vitaminas son esenciales en el sentido que los tejidos corporales no pueden sintetizarlas, o si las producen lo hacen en cantidades tan insignificantes que no es posible cubrir las necesidades corporales del individuo.

La actividad de la vitamina A se expresa en unidades internacionales (UI). La unidad internacional es el equivalente de 0.3 µg de retinol o de 0.6 µg de βcaroteno.

Dentro de las funciones de la vitamina A encontramos: (CatharineA.Ross, 2006)(McLaren DS, Kraemer; 2012)

- **Visión y Metabolismo Ocular:**En la retina hay dos tipos de células visuales a) bastones, que son receptores de la luz amortiguada; y los b) conos que son receptores de la luz brillante y percepción de los colores. En la retina, la forma activa de vitamina A es el 11-cis-retinal que inicia la cascada de fotoisomerización con la formación de complejos con las opsinas (rodopsinas) y llevan la información a la corteza cerebral. El ciclo de la visión se completa con la regeneración de 11-cis-retinal y rodopsina, proceso que ocurre rápidamente (minutos) cuando los niveles de vitamina A son suficientes. Cuando hay deficiencia de vitamina A, la regeneración de rodopsina se retarda y ocurre la ceguera en la oscuridad (pobre adaptación a la oscuridad). En las membranas conjuntivas, están presentes las células Goblet, productoras de mucus que conjuntamente con el fluido de las glándulas lacrimales forman la película que protege la integridad de la córnea. Cuando hay deficiencia de vitamina A se produce resequedad (xerosis) con la aparición de las manchas de Bitot (acúmulo de células muertas) en el cuadrante externo del ojo; si persiste la deficiencia puede ocurrir daño irreparable de la córnea (queratomalacia y ulceración) y pérdida de la visión.

- **Diferenciación celular:** La vitamina A es necesaria para la diferenciación de los epitelios, y es por acción sobre el núcleo. Las células de la capa basal de la epidermis se dividen y se desplazan hacia arriba; mientras sintetizan queratina y queratohialina pierden su núcleo, mueren y son eliminadas de las capas más externas del tejido. El efecto más notorio de la deficiencia de vitamina A en el animal intacto es el cambio del epitelio mucoso por epitelio escamoso queratinizante. El suministro de vitamina A revierte el proceso.
- **Sistema inmune:** La vitamina A contribuye en la prevención de enfermedades infecciosas, especialmente del aparato respiratorio creando barreras protectoras contra diferentes microorganismos. Estimula las funciones inmunes de los fagocitos y linfocitos, favorece la respuesta humoral con la producción de inmunoglobulina A específica y otras. Por ello promueve la reparación de tejidos infectados y aumenta la resistencia a la infección.
- **Desarrollo embrionario:** La vitamina A interviene en el desarrollo del embrión, numerosos estudios en modelos animales la deficiencia experimental de vitamina A produjeron anomalías: craneofaciales, timo, sistema cardiovascular y corazón; y muerte fetal. Bajas concentraciones de ácido retinoico produce la diferenciación en células endodérmicas parietales a partir de células germinales (células de Stem), el endodermo produce RNAm que codifica el colágeno de tipo IV en células embrionarias carcinomatosas. También varios estudios han revelado la intervención de los retinoides en el desarrollo del sistema esquelético.
- **Antioxidante:** previene el envejecimiento celular y la aparición de cáncer, se atribuye a los carotenoides actividad antioxidante natural; elimina los radicales libres y protege al ADN de su acción mutagénica.

ABSORCIÓN DE LA VITAMINA A

La vitamina A preformada y los carotenoides alimenticios son liberados de la proteína en el estómago por proteólisis. Luego se agregan a lípidos y pasan a la parte superior del intestino delgado. Las grasas y las proteínas en los alimentos y sus productos hidrolíticos estimulan la secreción de la bilis a través de la secreción de la hormona colecistocinina. Esto emulsiona los lípidos y promueve la formación de micelas que tienen grupos lipófilos en el interior y grupos hidrófilos en el exterior. De esta manera, se facilita la absorción de la grasa. Las sales biliares estimulan la lipasa pancreática y otras esterasas que hidrolizan los ésteres de retinilo en las células de la mucosa intestinal (enterocitos). El producto de la hidrólisis, retinol, es bien absorbido (70–90%) por las células de la mucosa.

Los carotenoides de provitamina A pasan inalterados a las células de la mucosa. Una parte de cada uno, junto con los carotenoides que no son provitamina, pasa inalterada a la linfa y a la sangre. El resto experimenta la división de la molécula por una enzima 15,15'-dioxigenasa específica dentro de la célula de la mucosa intestinal (Goodman, Huan, Shiratori, 1966). Este proceso también puede tener lugar dentro del hígado y algunos otros tejidos. La división simétrica de la molécula de β -caroteno produce dos moléculas de retinal, el cual se reduce y esterifica a éster de retinilo en gran medida. Parte de la división es asimétrica y produce menos retinal.

En la práctica, el β -caroteno y otros carotenoides de provitamina A tienen sólo una fracción de la actividad del retinol. El retinol es esterificado dentro de las células de la mucosa antes de ser incorporados a los quilomicrones. En este proceso, un tipo específico de Proteína Celular Fijadora de Retinol (conocida como CRBP por sus siglas en inglés) transporta el retinol liposoluble a través de los medios acuosos y lo entrega a la enzima Lecitina: Aciltransferasa de Retinol (conocida como LRAT por sus siglas en inglés) (Ong, Kakkad, MacDonald, 1987). Esta parece ser la enzima

intestinal principal que esterifica normalmente el retinól y luego lo entrega a los quilomicrones.

En función del consumo de vitamina A en el régimen alimentario, cerca del 10% no es absorbido, 20% aparece en las heces a través de la bilis, 17% se excreta en la orina, 3% se libera como CO₂, y 50% se almacena en el hígado (Olson, 1994).

TRANSPORTE DE LA VITAMINA A AL HIGADO

En el hígado la mayor parte de la vitamina A de los fragmentos de los quilomicrones en forma de ésteres de retinilo es captada por las células hepáticas parenquimatosas (hepatocitos). Allí, los ésteres se hidrolizan y después de procesarse en los endosomas, el retinol se transfiere al retículo endoplásmico. En este punto se une a la proteína fijadora de retinol (RBP) y luego de ingresar al Complejo de Golgi se secreta de la célula.

A falta de retinol, el hígado retiene RBP y tiende a acumularla (Rask, Valtersson, Arundi y col, 1983). Este fenómeno no bien comprendido forma la base de las pruebas de Respuesta Relativa a una Dosis (RDR) del estado nutricional de la vitamina A.

La mayor parte del éster de retinilo captado por los hepatocitos de los fragmentos de quilomicrones se transfiere en forma de retinol ligado a la RBP a otro tipo de células hepáticas, las células de Kupffer (Wake, 1994). El almacenamiento de vitamina A como ésteres de retinilo, parece ser su función principal. Del 50 al 80% de vitamina A en el cuerpo se encuentra en el hígado; 90 al 95% en las células de Kupffer, y 98% en forma de ésteres de retinilo, principalmente como palmitato. Esta reserva es normalmente suficiente para varios meses. El retinol ligado a la RBP se libera de las células de Kupffer y de los hepatocitos.

TRANSPORTE DE VITAMINA A OTROS TEJIDOS

El retinol en plasma ligado a la RBP, se asocia casi enteramente con otra proteína, la Transtirretina (denotada TTR) (Ingenbleek, Young, 1994). La formación de este complejo reduce la pérdida de retinol en el filtrado glomerular.

La RBP es miembro de una familia de proteínas cuyo conocimiento está en rápido crecimiento. Esta familia incluye proteínas que se unen a otras moléculas liposolubles. Este grupo de proteínas se denominan LIPOCALINAS (entre las que se encuentran la β lactoglobulina, RBP, apolipoproteína D, y complemento C8)(Sivaprasadarao, Findlay, 1994). La RBP se sintetiza en los hepatocitos, pero probablemente también en otros tejidos.

El retinol se recicla ampliamente en el plasma, hígado y otros tejidos; sólo una pequeña fracción está en funcionamiento.

Existe una gran variedad de moléculas para el transporte extracelular de retinoides y carotenoides: VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), LDL (lipoproteínas de baja densidad), RBP, IRBP (proteína fijadora de retinolinterfotorreceptora), EBP (proteína fijadora de epidídimo).

El retinol es captado principalmente por los receptores de RBP de la membrana celular y una pequeña porción ingresa a la célula por difusión. Dentro de las células hay muchas proteínas que fijan los retinoides y los dirigen a enzimas específicas: CRBP (proteína celular fijadora de retinol); CRABP (proteína celular fijadora de ácido retinoico); CRALBP (proteína celular fijadora de retinal), (Blomhoff, 1994).

La forma activa de la vitamina A varía en diferentes tejidos. El 11 cis-retinal está unido covalentemente a opsinas en la función de la visión. El ácido

todo- trans retinoico está unido no covalentemente a los Receptores Nucleares de Acido Retinoico (RAR, por sus siglas en inglés) en la regulación de transcripción de genes. Más recientemente, se ha indicado que el ácido 9 cis-retinoico fija y activa los 3 Receptores Nucleares X (RXR, por sus siglas en inglés) como factores de transcripción en la diferenciación celular.

Hoy en día la investigación está encontrando más efectos beneficiosos de los carotenoides.

Deficiencia de Vitamina A (DVA)

Se define DVA como el conjunto de alteraciones fisiológicas y manifestaciones clínicas causadas por el estado deficitario de vitamina A. Cuando los depósitos hepáticos de vitamina A están a $< 20 \mu\text{g/g}$ o $< 0.07 \mu\text{mol/g}$ (Acuerdo de ANNECY IVACG 2001).

La prevalencia de DVA en el Perú en niños menores de 5 años en el periodo 1997 al 2008 fue de 19.2% a 11.5% (MONIN, CENAN 2009)

Entre los criterios más importantes para definir DVA están: ceguera nocturna, retinol sérico en $< 20 \mu\text{g/dl}$ y mortalidad alta (> 50 por mil nacidos vivos), en niños menores de 5 años la prevalencia de DVA será alta (IVACG 2000).

La concentración de vitamina A en el hígado es considerado el “goldstandard”, basados en análisis de retinol en plasma y en muestras de hígado humano provenientes de autopsias o cirugía y en especímenes animales, Olson concluyó que una concentración de retinol total $< 5 \mu\text{g/gramo}$ se asociaba a muy bajos niveles de retinol en plasma; y concentraciones en hígado de 5 a $20 \mu\text{g/g}$ indican un estado marginal de vitamina A.

La evaluación histológica de la conjuntiva por medio de la citología de impresión conjuntival (CIC) también se ha propuesto como un test de valoración importante, el bajo nivel de vitamina A se asocia a una disminución de las células Goblet en la mucosa conjuntival y la presencia de las células epiteliales agrandadas con núcleo pequeño.

Xeroftalmia

Deriva de la palabra griega “xeros” que significa seco, es el término que se utiliza para señalar las diferentes manifestaciones oculares que terminan en sequedad de ojos resultantes de la falta de vitamina A. La xerosis afecta principalmente la conjuntiva bulbar, epitelio que recubre el globo ocular, y no así el epitelio de la conjuntiva palpebral.

Ceguera Nocturna

Es la primera evidencia de deficiencia de vitamina A, la persona tiene un visibilidad muy reducida en la penumbra. Ocurre porque en la DVA se reduce la rodopsina en los bastoncillos de la retina.

Enfermedad Diarreica Aguda (EDA)

Se define como una disminución en la consistencia de las heces (blanda o líquida) y/o un incremento en la frecuencia de las evacuaciones, con o sin fiebre o vómitos.

La EDA se reporta como una de las principales causas de muerte en niños menores de 5 años, en el mundo. En Perú las estadísticas del Ministerio de Salud (MINSA-Ofic. General de Estadística e Informática) reportan a la

diarrea infecciosa como la tercera causa de consulta externa en todos los grupos etarios hasta 2007.

Diferentes estudios muestran que el Rotavirus es el agente causal más frecuente y la diarrea bacteriana es causada por *Campilobacter*, *E. coli* y *Salmonella*.

La prevalencia nacional de EDA en 2000, 2007 y 2009 fue de 15.4%, 13.2% y 14% respectivamente (ENDES 2000,2007 Y 2009)

Las manifestaciones clínicas son: pérdida de peso, ojos hundidos, sed, boca y lengua secas, llenado capilar lento, diuresis escasa, vómitos, y trastorno de la conciencia. Cuando la deshidratación es severa requiere hospitalización, sobre todo si se trata de niños menores de 3 meses.

Infecciones Respiratorias Agudas (IRA)

Las IRA son todas aquellas que comprenden los episodios infecciosos que comprometen las vías respiratorias altas (desde la nariz hasta la epiglotis) y las vías respiratorias bajas (desde la laringe hasta el parénquima pulmonar). En Perú las IRA constituyen la primera causa de morbilidad en niños menores de 5 años, y la segunda en mortalidad infantil.

La prevalencia nacional de IRA en el año 2000, 2007 y 2009 fue de 20.1%, 9.4% y 6.4% respectivamente (ENDES 2000, 2007, 2009).

Las IRA son la principal causa de consulta pediátrica en atención primaria, urgencia, ausentismo escolar y hospitalizaciones constituyendo un 60% de todas las consultas anuales en promedio (Ministerio de Salud. Chile, 2005).

El periodo de incubación de las IRA es corto, de 1 a 3 días, siendo la mucosa respiratoria el órgano blanco de la infección, y puerta de entrada. El

90% de los agentes causales son los virus; y en los niños menores de 1 año el agente causal más frecuente es el Virus Sincitial Respiratorio, además los virus Influenza A, B y C, Parainfluenza, Rinovirus, Adenovirus, Coronavirus y algunos Enterovirus (ECHO, Coxaquie). Otros agentes causales son bacterias, MicoplasmaNeumoniae, Clamideas y Hongos.

El virus de la Influenza, presenta tres subtipos antigénicos, siendo los más frecuentes A y B; producen epidemias casi exclusivamente en épocas invernales con alta tasa de sobreinfección bacteriana.

Adenovirus (AV) es un virus ADN, sin envoltura, pertenece a la familia Adenoviridae, con más de 80 miembros repartidos en dos géneros: Aviadenovirus (de las aves) y Mastadenovirus (de los mamíferos). Durante los años 1996 hasta el 2001 se observó un aumento en la prevalencia de Adenovirus en varios países del hemisferio sur (China, Nueva Zelanda, Brasil, Uruguay, Chile y Argentina), En este período se incrementaron los casos de infecciones respiratorias graves por este virus ocasionando internaciones prolongadas con necesidad de asistencia ventilatoria mecánica.

Entre otros virus menos frecuentes que también producen infecciones respiratorias se cuentan: rinovirus, enterovirus, coronavirus, y el recientemente descubierto metapneumovirus humano, entre otros.

En el año 2001 Van den Hoogen y col (Rotterdam, Holanda) identificaron un nuevo virus respiratorio, el Metapneumovirus humano (MPVh) en 28 niños con IRA. Se trata de un virus ARN con características virológicas y genéticas que pueden ser incluidas dentro de la familia Paramixoviridae. Investigadores de Canadá, Australia, Francia, Reino Unido y Estados Unidos han descrito pacientes con IRA debido a MPVh con características clínicas que van desde una leve infección de vías aéreas superiores, hasta cuadros de sibilancias con bronquiolitis severa y neumonía. Apparently el virus tendría una distribución en la población infantil similar a la del VRS. Sus

mecanismos de contagio y su comportamiento en la comunidad aún no han sido bien estudiados.

Existen factores de riesgo o predisponentes de IRA como: bajas condiciones socioeconómicas, partos múltiples, bajo peso de nacimiento, ausencia de lactancia materna, malnutrición y carencias nutricionales específicas como la deficiencia de vitamina A.

Neumonía y Bronconeumonía

Neumonía es un término general que engloba las IRA bajas, con inflamación aguda del parénquima pulmonar, que se va llenando de líquido y exudado purulento que interfiere con oxigenación del paciente. El 50% de casos es producido por el germen neumococo. El término Bronconeumonía se relaciona a neumonía multifocal o a foco múltiples, producido generalmente por agentes virales y en niños pequeños (lactantes).

Signos y síntomas: Los síntomas de neumonía varían, dependiendo de la edad del niño y de la causa de la neumonía. Algunos de los síntomas más frecuentes son: tos, respiración rápida, sibilancias, tirajes, dolor torácico, vómitos y dolor abdominal.

Duración: Con tratamiento la mayoría de los tipos de neumonía bacteriana se curan en un plazo de 7 a 10 días. Puede ser necesaria la hospitalización cuando hay fiebre alta y dificultad respiratoria.

Síndrome Obstructivo Bronquial (SOB)

Se caracteriza por presentar sibilancias, taquipnea y tiraje. Constituye la forma de presentación más frecuente de las infecciones virales en niños menores de 5 años, aunque numerosas entidades clínicas pueden ocasionarlo. La sibilancia es un signo inespecífico originado en los

bronquiolos producido por el paso del flujo turbulento (por las secreciones) a través de vías aéreas estrechas.

Características anatómicas y funcionales del aparato respiratorio en los niños pequeños favorecen la producción de sibilancias. Dentro de estas condiciones que predisponen a los niños pequeños a sibilar se cuentan: menor calibre de la vía aérea, menor consistencia del cartílago bronquial, menor circulación colateral, mayor frecuencia de hiperreactividad bronquial inespecífica, entre otros.

Existen referencias que aseguran que hasta un 50% de los lactantes y niños pequeños presentará uno o más episodios de obstrucción bronquial hasta los 3 años de edad, disminuyendo a un 30% a los 5 años. El SOB agudo puede corresponder en la mayoría de los casos a un cuadro de infección respiratoria (bronquiolitis o neumonía).

Bronquiolitis

Las bronquiolitis constituyen la primera causa de SOB agudo en menores de 5 años de edad y el Virus Respiratorio Sincitial (VRS) causa enfermedad respiratoria aguda en pacientes de cualquier edad pero en lactantes y niños pequeños es la causa más importante de bronquiolitis y de infecciones sintomáticas que afectan a las vías respiratorias bajas. El VRS es un virus pleomorfo, ARN, se lo recupera durante el período otoño-invierno (mayo-septiembre). El VRS tipo A es el más frecuente, es epidémico y de mayor agresividad.

En menor proporción son responsables el virus parainfluenza tipo 3, adenovirus y micoplasma.

El cuadro clínico comienza con síntomas catarrales y progresa gradualmente hasta producir dificultad respiratoria que en muchos casos requiere hospitalización.

Estado Asmático

El estado asmático es una entidad que se ve con relativa frecuencia en los servicios de emergencia; el pilar de su tratamiento son los esteroides y los β -agonistas adrenérgicos. Sin embargo cuando el enfermo no responde favorablemente al tratamiento se debe recurrir a otras alternativas como: adrenalina subcutánea, anticolinérgicos, aminofilina, sulfato de magnesio, etc. Sólo 5% de los casos de asma severa requieren ventilación mecánica pero en tales ocasiones la mortalidad puede ser 13%.

El asma se ha convertido en la enfermedad crónica más frecuente de la infancia, pues puede afectar de 5% a 10% de la población infantil con grandes repercusiones económicas; es además una de las principales causas de ausentismo escolar.

Uno de los signos físicos que indican mayor gravedad consiste en el uso de los músculos accesorios por fatiga diafragmática y la presencia de pulso paradójico. Al paciente en estado asmático, de acuerdo con el contexto clínico, se le deben tomar los siguientes exámenes:

Radiografía de tórax para evidenciar atelectasias, neumotórax, (vistos hasta en 1% de pacientes con estado asmático) y/o procesos infecciosos agregados, que pueden ser neumonías. La toma de gases arteriales para determinar si hay insuficiencia respiratoria.

CAPITULO 3: METODOLOGÍA

3.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Diseño Estadístico de la Muestra

Identificación de elementos de muestreo (Población y Cobertura): La población está definida como todos los niños menores de 5 años atendidos en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins (HNERM) , de setiembre 1999 a febrero 2000.

El marco de muestreo está formado por la lista del conjunto de niños atendidos en el servicio de pediatría del HNERM con Infecciones respiratorias agudas (IRA) y Enfermedad diarreica aguda (EDA).

Y para los casos control, el marco de muestreo está formado por la lista del conjunto de niños sanos del CEI MODELO de Es salud, de la misma edad.

Unidad de Muestreo:

Es el niño menor de 5 años con IRA y EDA. Y para los casos de control es el niño menor de 5 años, sano del CEI Modelo de EsSalud.

Definición de la Muestra

La muestra es probabilística e independiente, es probabilística porque las unidades de muestreo se seleccionan mediante métodos aleatorios que nos permitirán hacer inferencias acerca de la población

en estudio y es independiente porque la selección de un elemento no influye en la selección de otro elemento.

El tamaño de muestra para satisfacer los objetivos del estudio es calculada mediante las tasas de incidencia de Infecciones respiratorias agudas (IRA) (CIE-10: J15, J18, J20, J45, J46) cuya T.I. es 0.0225 y la de EDA: (CIE-10: A00, A01, A02, A03, A04, A09) cuya T.I. es 0.0079932; registradas en la División de Estadística e Informática - HNERM - 1998.

Determinación del Tamaño de muestra

Como se está estudiando dos grupos de patologías en una misma población es adecuado formar dos estratos de la población de muestreo. Uno por cada patología en estudio. Es adecuado considerar muestreo estratificado con afijación proporcional que consiste en repartir el tamaño final n en proporción al tamaño final de cada uno de los estratos de la población.

1. La variabilidad del estudio se obtiene a través de las tasas de Incidencia T.I de IRA que es 0.0225; para ello se sabe que $g_1 = P_1 * Q_1$, donde $P_1 = 0.0225$ $Q_1 = 1 - 0.0225$, también T.I de EDA es 0.0079932; $g_2 = P_2 * Q_2$, donde $P_2 = 0.0079932$, $Q_2 = 1 - 0.0079932$.
2. Es necesario fijar un nivel de precisión o error de estimación, sea $E = 3\%$ proporcionado por el investigador, según las patologías de estudio.
3. Z es estadística de una tabla normal estándar según nivel de confiabilidad 95% entonces el nivel de significancia es de 5% en la tabla normal $Z_{5\%} = 1.96$.
4. Se considera lo siguiente:

N: tamaño de la población total en estudio es el del primer semestre de 1998 de casos atendidos entre los pacientes menores de 5 años con IRA (CIE-10: J15, J18, J20, J45, J46) y EDA (CIE-10: A00, A01, A02, A03, A04, A09) en conjunto fueron 183.

N1: tamaño del estrato 1, la población de niños menores de 5 años con IRA (CIE-10: J15, J18, J20, J45, J46) en estudio, en el primer semestre de 1998 fue de 153 niños.

N2: tamaño del estrato 2, la población de menores de 5 años con EDA (CIE-10: A00, A01, A02, A03, A04, A09) en estudio, en el primer semestre de 1998 fue de 30 niños.

V1: Varianza poblacional del estrato 1 de pacientes con IRA (CIE-10: J15, J18, J20, J45, J46). $P_1 * Q_1 = 0.0225 * (1 - 0.0225) = 0.021994$.

V2: Varianza poblacional del estrato 2 de pacientes con EDA (CIE-10: A00, A01, A02, A03, A04, A09). $P_2 * Q_2 = 0.0079932 * (1 - 0.0079932) = 0.0079293$.

5. La fórmula (Cochran W. 1987) de tamaño de muestra y afijación es el siguiente:

$$n = \frac{\sum (N_i * V_i)}{N * D + (1/N) * (\sum (N_i * V_i))}$$

Ni: Tamaño de la Población i.

Vi: Varianza del estrato i.

$D = (E / 1.96)^2 = (0.03 / 1.96)^2$

= 0.000234277383

Reemplazando los valores en la formula tenemos:

$$n = \frac{(153 * 0.021994 + 30 * 0.0079293)}{183 * 0.00023 + (1/183) * (153 * 0.021994 + 30 * 0.0079293)}$$

$$n = \frac{3.602961}{0.0429 + 0.01969} = \frac{3.602961}{0.06258} = 57.574 = 58$$

Según el diseño de muestreo estratificado con afijación proporcional es necesario tomar información de 58 pacientes con IRA y EDA en estudio; desagregados según el método de afijación es PROPORCIONAL, es decir:

$$n_i = n * \left(\frac{N_i}{N} \right) = 58 * \left(\frac{53}{183} \right) = 48$$

Se necesita información de 48 pacientes menores de 5 años con IRA.

$$n_2 = n * \left(\frac{N_2}{N} \right) = 58 * \left(\frac{10}{183} \right) = 10$$

Se necesita información de 10 pacientes menores de 5 años con EDA.

Criterios de selección de la muestra:

Para casos controles:

Son aquellos niños sanos del CEI MODELO Es salud. La información mas frecuente que se utiliza para la selección es el método de muestreo sistemático, hallando un $K = N/n$ (K: es el rango de selección) el orden es la EDAD del niño, luego hallamos un numero al azar entre 1 y k, la cual nos indicara el primer elemento a ingresar en

la muestra control, luego el segundo elemento será el siguiente k-esimo, así sucesivamente hasta completar los 58 niños para comparación.

Para casos con IRA y EDA:

Son aquellos niños hospitalizados en el servicio de pediatría del HNERM con IRA y EDA, determinándose el tamaño de muestra requerido para el estudio; con una confiabilidad del 95%. Se recogió información de niños menores de 5 años con IRA según el ingreso a hospitalización y que cumplieron los criterios de inclusión hasta completar la información de $n_1 = 48$ niños. Similarmente se tomó información de $n_2 = 10$ niños menores de 5 años con EDA, según el ingreso a hospitalización hasta completar la información requerida para la investigación.

3.2 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

El registro de información se llevó de acuerdo a las variables de interés en el estudio; se realizó el vaciado en una ficha de recolección de datos para facilitar el trabajo de análisis.

Modelo de Ficha de Recolección de Datos (Anexo)

Criterios de inclusión para el estudio

Edad: Niños de 2 meses a 5 años.

Nivel nutricional: Por encima del tercer percentil según indicador nutricional peso/talla (NCSH 1979)

Niño hospitalizado con IRA.

Niño hospitalizado con EDA.

Niño sano del CEI MODELO Essalud

Criterios de exclusión del estudio

Niños con enfermedad inflamatoria del ojo y anexos.

Niños gravemente enfermos.

Instrumentos

El método de Citología de Impresión Conjuntival (CIC) se aplicó utilizando el manual del ICEPO: John Hopkins University, BaltimoreUSA (Wittpenn J y col, 1988)

a) Todas las muestras fueron obtenidas por la investigadora, previa aprobación de los padres; dos muestras por cada ojo. A los niños se les hacía desviar la mirada hacia un objeto (juguete) para que se exponga la parte temporal de la conjuntiva ocular, de donde se obtenía la muestra. Para esto se utilizó un trocito de papel filtro tipo Millipore, que se adhería por segundos a la conjuntiva expuesta. A los niños más pequeños se les envolvía en una manta para poder hacer más fácil el proceso de toma de muestra.

b) Las muestras contenidas en el papel filtro tipo Millipore fueron procesadas en el Laboratorio de Citología del Dpto. de Anatomía Patológica del HNERM por la investigadora. El protocolo de las técnicas de coloración de la muestra y montaje de láminas, se adjunta en versión traducida del manual de ICEPO.

c) La lectura de las láminas de la CIC se realizó siguiendo los lineamientos de ICEPO y se calificaron en normales y anormales.

El fluxograma de este procedimiento se anexa en versión traducida.

Se tomaron fotografías de láminas con citología Normal y citología Anormal.

El diagnóstico de las enfermedades se realizó por cuadro clínico, y además por exámenes radiográficos en el caso de las IRA.

Los resultados se resumieron en cuadros y gráficos con ayuda del programa estadístico SPSS para windows versión 7.5 (Lizasoain. 1999)

Se empleó el análisis de Chi-cuadrado para buscar la asociación entre algunas variables y observar el grado de independencia, y probar la diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre el grupo de niños sanos y los niños enfermos con IRA y EDA.

3.3 TÉCNICA DE TINCIÓN Y MONTAJE

MÉTODO DE CITOLOGIA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVALCIC

Introducción.-

El Método de Citología de Impresión Conjuntival (CIC), es un método mínimamente invasivo que se realiza obteniendo células de la superficie de la conjuntiva bulbar del ojo y luego de teñirlas se observa los cambios histológicos; lo cual sirve para evaluar es estado fisiológico de la vitamina A.

Material necesario y Reactivos.-

- a) Papel filtro Milipore tipo HAWP 304 FO.

- b) Mesa de examen para la toma de muestras de los niños pequeños, gasas, guantes, tijeras y pinzas para manipular los trocitos del papel filtro que contienen las muestras.
- c) Viales de conservación y transporte de las muestras: frascos de boca amplia con tapa rosca, uno por cada niño.
- d) Canastilla de tinción.
- e) Sustancia fijadora:
 - Alcohol etílico 95% (75 ml)
 - Agua destilada (25 ml)
 - Ácido glacial acético (5 ml)
 - Formaldehído 37% (5 ml)
- f) Ácido periódico: solución al 0.5%
- g) Reactivo de Shift:
 - PARA Fuscina 4.55 g/l
 - Ácido hidroclic Normal 86.5 g/l
 - Metabisulfito de potasio 4.55 g/l
 - Agua destilada 1000 ml
- h) Hematoxilina de Harris:
 - Cristales de Hematoxilina 5.0 g
 - Alcohol etílico 100% (absoluto) 50.0 ml
 - Sulfato aluminiumammonium 100.0 g
 - Agua destilada 1000 ml
 - Oxido de mercurio rojo 2.5 g
 - Ácido glacial acético 32.0 ml
- i) Agua destilada

- j) Metabisulfito de sodio: solución al 0.5%
- k) Etanol 95%
- l) Etanol 100%
- m) Xylol

Procedimiento de tinción.-

A.- Importancia: el Ácido Periódico Shiff (PAS) tiñe las manchas de mucina de las células Goblet color rosado brillante. El metabisulfito de sodio fija la tinción PAS. Por el contrario, la Hematoxilina de Harris tiñe los núcleos de las células epiteliales de color púrpura azulado. Los baños de etanol son usados para secar las muestras.

B.- Preparación de los Baños: puede usarse vasijas de vidrio o de plástico, cada baño debe ser marcado:

- Baño 1: agua fresca de grifo.
- Baño 2: ácido periódico al 0.5% .
- Baño 3: Reactivo de Shiff, diluido 1:1 con agua destilada.
- Baño 4: metabisulfito de sodio al 0.5%.
- Baño 5: Hematoxilina de Harris, filtrar antes de cada uso y cada 3 horas durante la tinción.
- Baño 6: etanol 95%, reponer después que se han teñido 10 canastillas.
- Baño 7: etanol 100% (absoluto), reponer después que han sido teñidas 10 canastillas.
- Baño 8: etanol 100% (absoluto), reponer después que han sido teñidas 10 canastillas. El baño 8 puede ser sustituido por el baño 7 después que han sido procesada 10 canastillas.

C.- Proceso de tinción (ver esquema en la figura 2):

1. Canastilla numerada, cuyas pozas tienen orificios en su fondo. Sumergir esta canastilla en el baño 1 conteniendo el agua de grifo. Trasladar los especímenes de los frascos contenedores (fijación) con una pinza, levantándolos por el final en punta. No tocar la parte roma del papelito con la pinza, pues se pueden dañar las muestras. Las muestras del mismo paciente serán colocados en una misma poza. Asegurarse de cubrir la canastilla.
2. Dejar caer agua del grifo sobre la canastilla de tinción para quitar las sustancias preservantes; cuando se inunda el baño hay que tener cuidado que el agua no caiga directamente sobre la canastilla.
3. Retirar la canastilla del baño 1 y hacer gotear el agua excedente. Siguiendo cada baño 1, coger la canastilla por un ángulo y secar sobre una toalla para estar seguro de que las pozas están bien escurridos. Colocar la canastilla en el baño 2 que contiene ácido periódico al 0.5%. Agitar suavemente la canastilla en este baño durante dos minutos.
4. Retirar la canastilla del baño 2 y retornar al baño 1, el que debe estar lleno con agua fresca. Continuar llenando el baño 1 con agua de grifo por dos minutos. Retirar la canastilla del baño 1 y drenar el exceso de agua sobre la toalla.
5. Colocar la canastilla en el baño 3 lleno con reactivo de Shiff diluido 1:1 con agua destilada. Agitar ocasionalmente la canastilla por ocho minutos.
6. Trasladar la canastilla del baño 3 y retornar al baño 1, éste debe estar lleno con agua fresca de grifo; abrir el grifo sobre el baño 1 durante dos minutos después de haber cambiado el agua anterior. Cambiar el agua nuevamente e inundar el baño durante un minuto más o hasta que el lavado este claro. Retirar la canastilla del baño 1

y escurrir el exceso de agua sobre una toalla.

7. Colocar la canastilla en el baño 4 lleno con metabisulfito de sodio al 0.5% por 2 minutos.. Agitar suavemente.
8. Retirar la canastilla del baño 4 y retornar al baño 1 lleno con agua fresca de grifo. Inundar suavemente bajo el grifo por 2 minutos. Retirar la canastilla del baño 1 y escurrir el exceso de agua sobre una toalla.
9. Pasar al baño 5, lleno con Hematoxilina de Harris filtrada; sumergir completamente la canastilla 3 veces por un segundo cada vez. Luego enjuagar inmediatamente al baño 1 lleno con agua limpia de grifo. El agua del baño se torna púrpura oscuro. Mientras hay color púrpura el proceso de tinción continúa. Por consiguiente, es importante cambiar el agua del baño por 3 veces. Continúa el enjuague bajo agua corriente del rifo durante 2 minutos o hasta que no pueda ser vista más hematoxilina en el agua de lavado.
10. Retirar la canastilla del baño 1 y hacer correr el exceso de agua, asegurarse de esto antes de ir al siguiente paso, pues no hay más lavado con agua de grifo. Los pasos 11 al 13 son baños de etanol para secado. No regresar más al baño 1.
11. Colocar la canastilla en el baño 6, lleno con etanol 95%, agitar por minutos y retirar. Dejar gotear el exceso.
12. Colocar la canastilla en el baño 7, lleno con etanol absoluto 100%. Agitar por 2 minutos.
13. Repetir el paso anterior en un segundo baño de etanol 100%. Agitar por 2 minutos.

14. Cuidadosamente, retirar la tapa de la canastilla, dejando ésta en el baño de alcohol. Cuando la tapa está fuera, las muestras pueden flotar fácilmente fuera de las pozas, se debe evitar mover la canastilla. Usando pinzas retirar las muestras de un solo paciente a una botella de vidrio marcada conteniendo xylol. Estar seguros de coger el espécimen por la parte en punta del papel. Dejar las muestras en xylol por lo menos 20 minutos, para fijar lo procesado anteriormente. Esto tornará en su momento el papel de opaco a transparente.

Preparación de la lámina:

1. Colocar el espécimen sobre un portaobjeto como se ve en la figura 1. la parte roma final del papel contendrá las células. No importa qué cara está arriba, ya que el papel está translucido y las células podrán ser leídas aunque ellas estén por arriba o por debajo del papel.

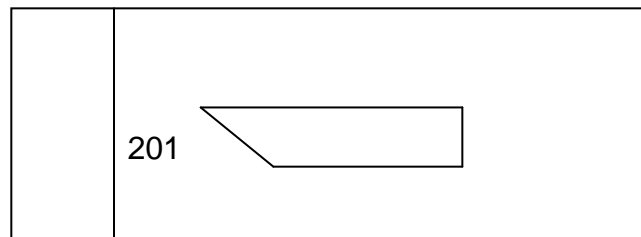
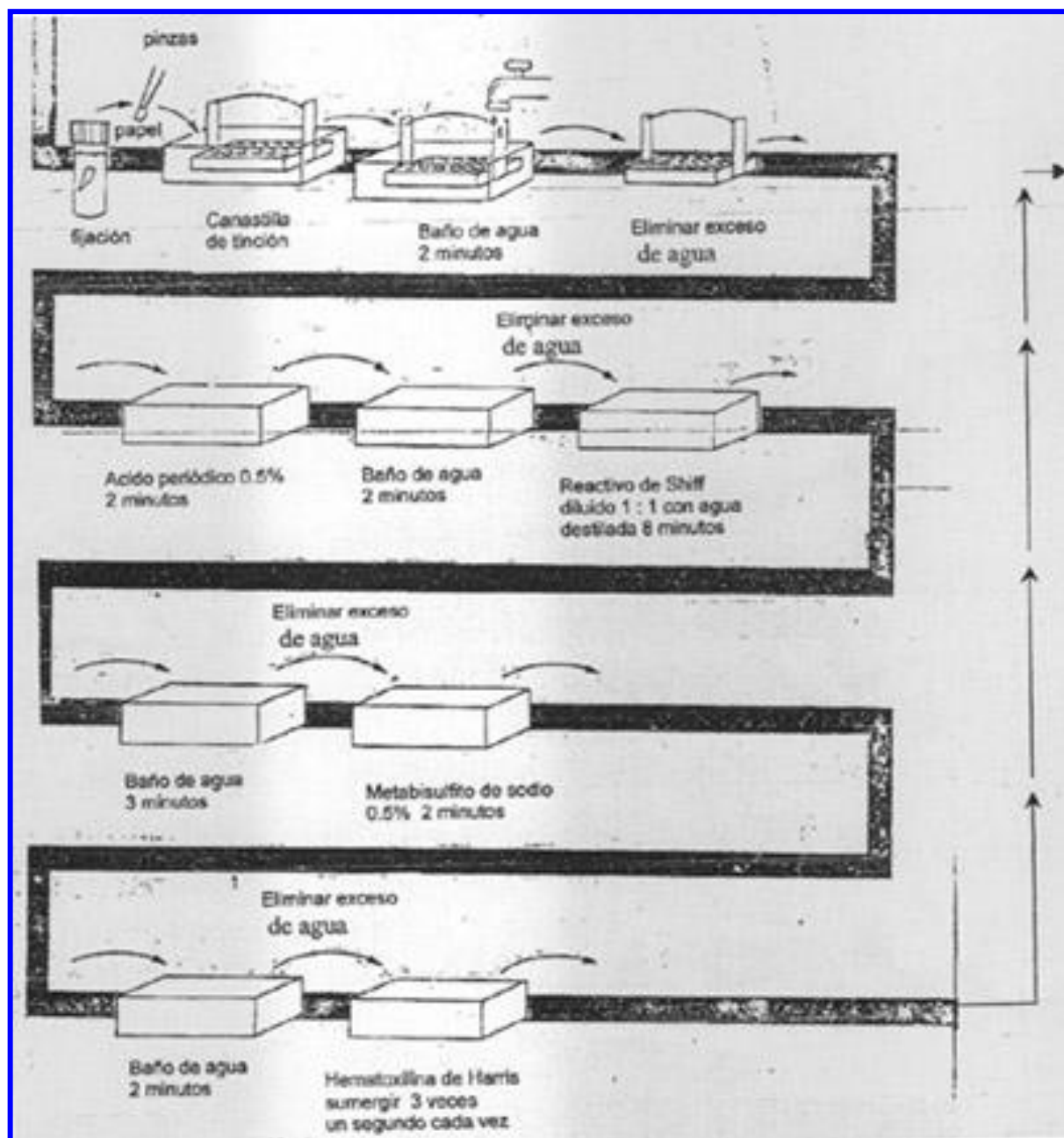


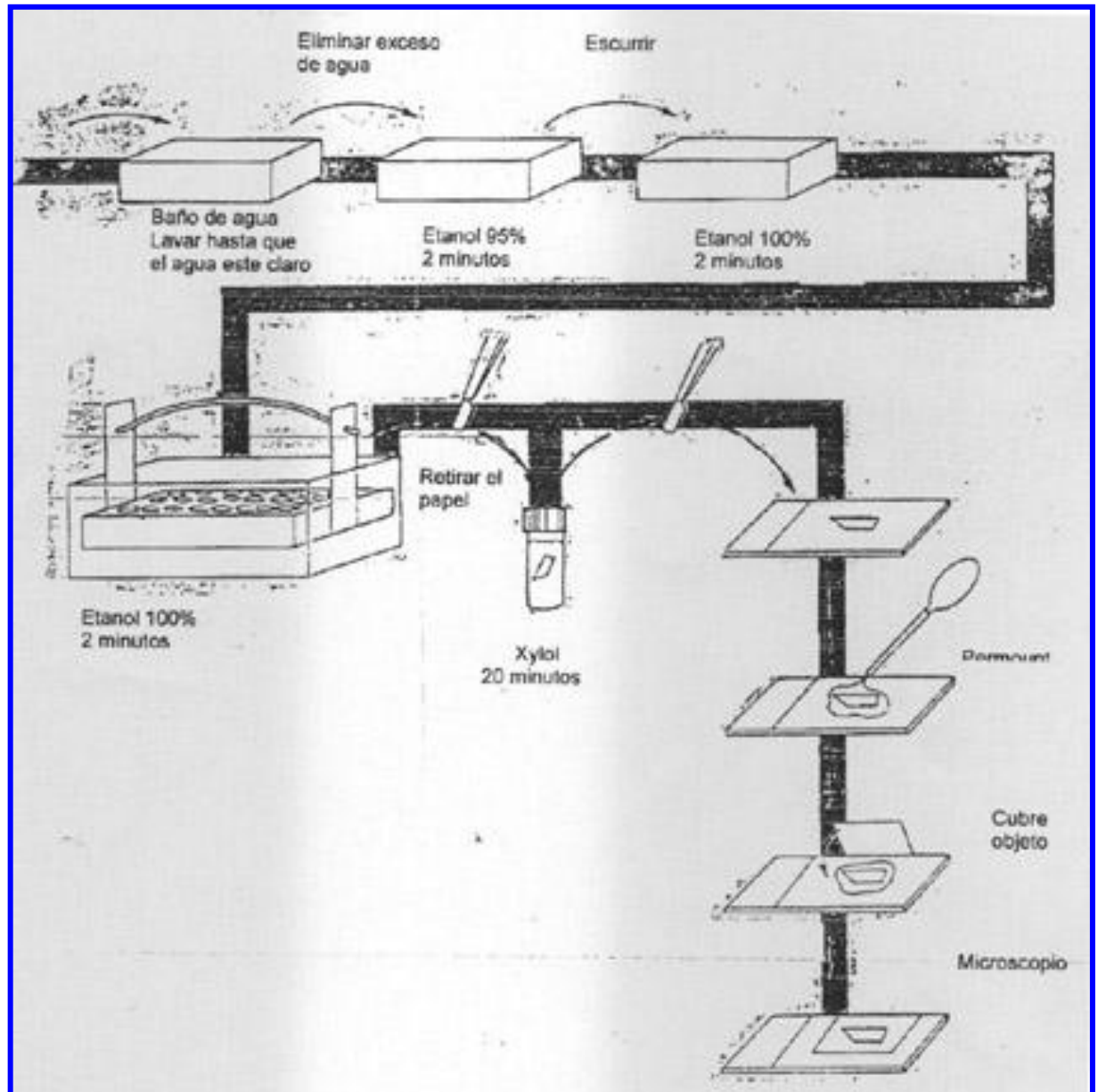
Fig. 1

2. Inmediatamente añadir varias gotas de Permout directamente sobre la superficie del espécimen usando una pipeta; se debe añadir el Permout antes que el Xylol se evapore. Si el espécimen se seca se volverá opaco y no podrá ser leído. Por tanto, no retirar más de dos especímenes al mismo tiempo del Xylol.
3. Suavemente y despacio colocar el cubreobjeto sobre el Permout para evitar burbujas por debajo.
4. Se recomienda esperar una noche para que el Permout seque sobre el portaobjeto, antes de ser visto, si se hace antes puede mancharse impidiendo una clara visión. Las manchas de Permout puede ser limpiado con Xylol.

FIGURA 2
TECNICA DE TINCION Y MONTAJE
(ICEPO)

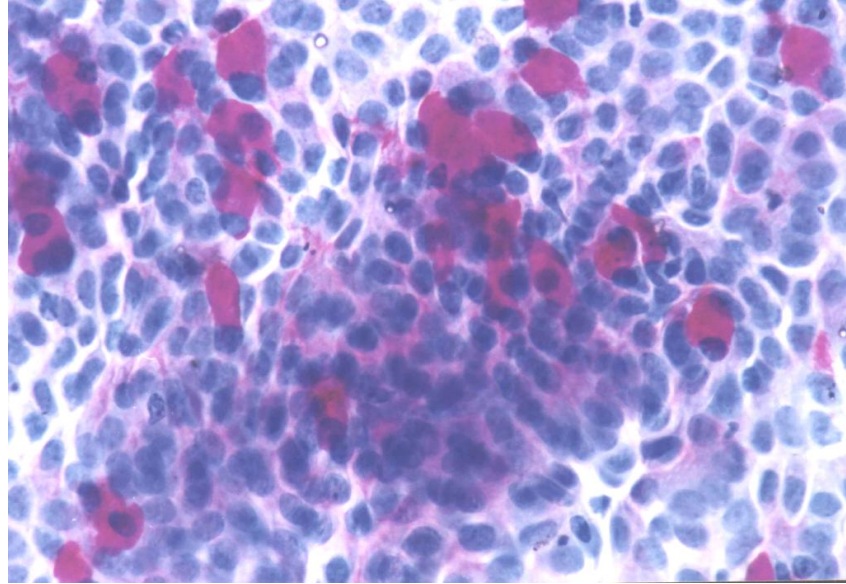


(CONTINUACION FIGURA 2)

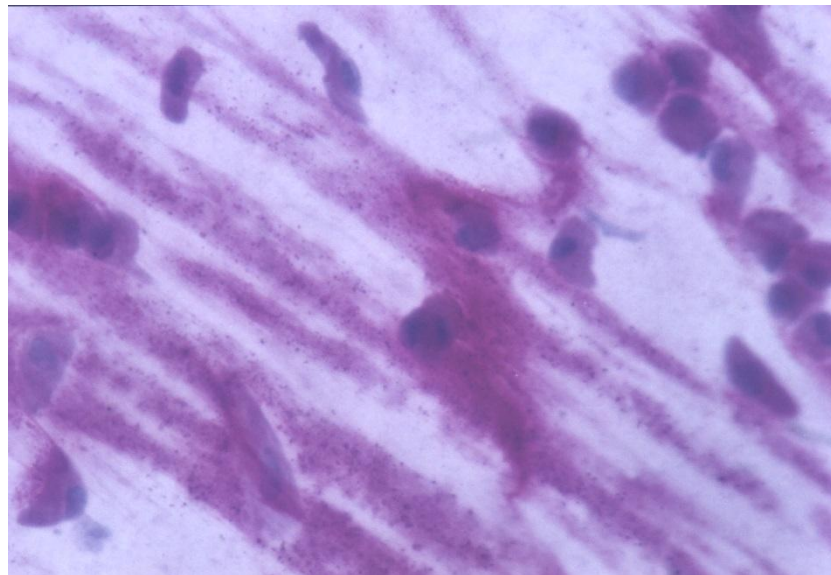


MUESTRA FOTOGRAFICA DE CIC DE UN NIÑO SANO

CITOLOGIA CONJUNTIVAL NORMAL: CELULAS GOBLET NUMEROSAS (MAS DE 5 POR CAMPO), SOBRE UN FONDO DE CELULAS EPITELIALES PEQUEÑAS Y NÚCLEOS OSCUROS Y GRANDES. (40X)

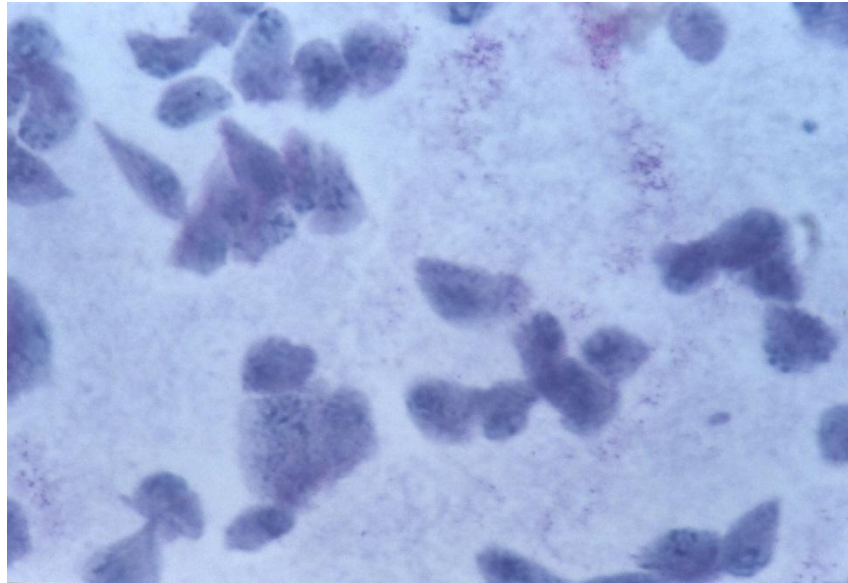


CITOLOGIA CONJUNTIVAL NORMAL: MANCHAS DE MUCINA ABUNDANTE (PAS POSITIVO).(100X)

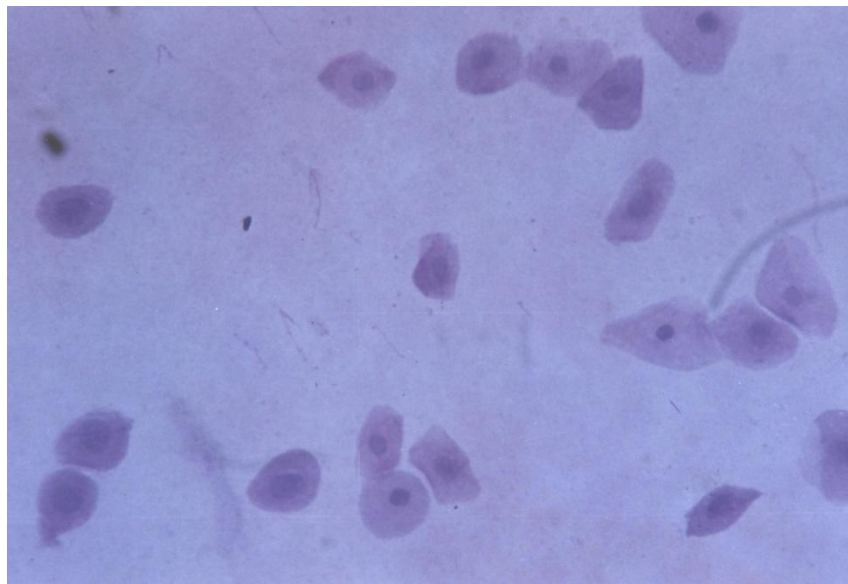


MUESTRA FOTOGRAFICA DE CIC DE UN NIÑO ENFERMO

CITOLOGIA ANORMAL: AUSENCIA DE CELULAS GOBLET Y CELULAS EPITELIALES ALARGADAS Y ESCASAS.(100X)



CITOLOGIA ANORMAL: ESCASAS CELULAS EPITELIALES.(100X)



CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La Citología de Impresión Conjuntival (CIC) es un método que permite evaluar el proceso de diferenciación celular y la integridad de los epitelios. La CIC tiene la capacidad de registrar a nivel de órgano efector la suficiencia del nivel de vitamina A para mantener la integridad y funcionalismo de los epitelios secretores: bronquial, digestivo, urinario y conjuntival (Natadisastra G, Wittpenn J, 1988). Tiene la ventaja de poder mostrar los cambios citológicos en el epitelio más fácilmente accesible como lo es el de la conjuntiva ocular, antes de que aparezcan los signos clínicos de deficiencia. (Amedee-Manesme O, Wittpenn J, 1988)(Kjohlhede C, Gadomsky A, 1989)

El método ha sido aplicado en grandes poblaciones y en grupos seleccionados, en diferentes partes del mundo y ha sido propuesto como un test diagnóstico, objetivo, para detectar deficiencia precoz de vitamina A (Sommer A, 1996)

Con el propósito de centrar el estudio en la evaluación de la vitamina A sólo incluimos niños considerados adecuados nutricionalmente, de acuerdo al indicador antropométrico peso/talla (NCHS 1979) tanto en los niños sanos como en los niños enfermos; esto nos permitió excluir los casos evidentes de desnutrición calórico proteica, la cual coexiste con la deficiencia de vitamina A. Sin

embargo, en nuestro grupo de niños hospitalizados encontramos un número de 6 que estaban entre los percentiles 25 y 10 (segundo y tercer percentil), que se consideró como niños de bajo peso para su talla, y se interpretó como un grado leve de desnutrición aguda, condicionado por la enfermedad subyacente, pues por historia clínica se obtuvo el dato que el peso de estos niños era mayor antes de enfermar.

La infección concomitante o la enfermedad aguda afecta el estado nutricional, el transporte, y la utilización de la vitamina A; alterando los mecanismos inmunológicos de defensa tanto celular como humoral (Olson J, 1977) (IVACG, 1983) (IVACG 1989).

Una de las causas más frecuentes de la enfermedad pediátrica en los países en desarrollo son las infecciones respiratorias agudas, y los niños menores de 5 años suelen padecer de 4 a 8 episodios anuales de IRA (OMS) las cuales causan de 30 a 60 % de las consultas pediátricas y de 30 a 40% de las hospitalizaciones (Benguigui Y, 1993).

El nivel sérico de retinol es un parámetro bioquímico que tiene la característica de señalar la deficiencia de vitamina A (hipovitaminosis) cuando las reservas hepáticas han sido críticamente deprimidas, y sus valores pueden ser influidos por diversas situaciones clínicas como por ejemplo un proceso inflamatorio agudo (Sommer A, 1996). Cuando las reservas son adecuadas la inflamación aguda puede generar transitoriamente niveles séricos bajos que se recuperan rápidamente durante la convalecencia (Moreira E y col, 1996). Estos hechos fueron estudiados ampliamente por Sommer A. en niños con sarampión (1996).

Usualmente se considera que los niveles séricos menores de 20 μg /dl de retinol refleja una situación marginal y cifras por debajo de 10 μg /dl indican un estado deficiente (Underwood B, 1990)

En nuestro trabajo, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de niños sanos y el grupo de los niños hospitalizados por IRA y EDA respecto al resultado de la citología de impresión conjuntival ($p < 0.05$), la alta proporción de CIC **anormal** en los niños enfermos (**63.8%**) nos indica la alta sensibilidad del método de la CIC para valorar el estado fisiológico de la vitamina A en el organismo, sobre todo a nivel de órganos efectores u órganos blanco.

En el trabajo clínico de Moreira y col. (1996) compararon los métodos de CIC y el dosaje de retinol sérico en 178 niños con diagnóstico de neumonía y con un nivel nutricional por encima del tercer percentil, encontrando una **citología anormal** en 47% de los casos y asociación estadística entre la gravedad de la neumonía y la CIC anormal; mientras que en 48% de pacientes encontraron niveles bajos de retinol con una media de 23.3 ug/dl y desviación estandar de 9.5, lo cual significa una proporción alta de pacientes con niveles bajos de retinol durante la fase aguda del episodio inflamatorio; pero no hallaron asociación estadística entre los niveles bajos de retinol y la gravedad de la neumonía.

Otro, realizado en una población de niños de 2 a 6 años de edad para evaluar deficiencia subclínica de vitamina A y desnutrición en zonas urbano marginales y rural de Maracaibo Venezuela (Castejón H et al, 2001) encontraron **CIC anormal** 35% en el área urbano y 48% en el área rural; detectándose desnutrición global 36% y retardo del crecimiento 44%. La CIC anormal se halló en 35% tanto en niños adecuadamente nutridos como en los desnutridos.

Las evaluaciones bioquímicas, histológicas y funcionales del estado de la vitamina A son complejas y costosas. La técnica de la CIC ha sido aplicada en varias partes del mundo, y especialmente en niños, debido a que es una población de mayor riesgo de deficiencia. Y en

casi todos los casos, se ha demostrado que el método de CIC es capaz de separar significativamente a los niños con niveles séricos de vitamina A deficientes (VITAL, 1991).

En Indonesia, el promedio de niveles de retinol de niños con CIC normal fue de 22.2 ug/dl, mientras que los niños con CIC anormal tuvieron un promedio de 15.2 ug/dl (Natadisastra G, Wittpenn J, 1987); lo interesante es que 23% de los niños que ingresaron al estudio como normales por retinol circulante tenían una CIC anormal, la cual se normalizó después de tratamiento con vitamina A. Esto nos sugiere que, en la elección del método para evaluar el estado nutricional de la vitamina A, debe considerarse la ruta metabólica de este micronutriente: niveles de depósito (hígado), niveles circulantes de retinol y estado de los epitelios. Cuando se administra vitamina A, los niveles circulantes pueden subir rápidamente, pero la resolución de los cambios histológicos puede ocurrir en 4 semanas a 6 meses.

Luego, la CIC como indicador del estado de vitamina A en la población, tiene las siguientes ventajas: es válida, es relativamente no invasiva (comparada con métodos que requieren la obtención de muestras sanguíneas), es relativamente barata, y no requiere de laboratorio sofisticado. La adquisición de habilidad y técnica para la recolección de la muestra en los niños requiere de un entrenamiento intenso que no pasa de una semana. No requiere condiciones especiales (cadena de frío) para el transporte, manejo y almacenamiento de las muestras, y es un método que se puede aplicar en la clínica médica, en grandes poblaciones comunitarias para evaluar deficiencias y/o monitorear actividades de intervención con vitamina A.

4.2 PRUEBA DE HIPÓTESIS

TABLA DE CONTINGENCIA.

GRUPOS: NIÑOS SANOS Y NIÑOS ENFERMOS CON RESULTADOS DE CIC

| | | | CIC. | | Total | |
|-------|----------|----------------------|----------------------|---------|-------|-------|
| | | | NORMAL | ANORMAL | | |
| GRUPO | SANOS | Frecuencia observada | 43 | 2 | 45 | |
| | | Frecuencia esperada | 28.0 | 17.0 | 45.0 | |
| | ENFERMOS | Frecuencia observada | 21 | 37 | 58 | |
| | | Frecuencia esperada | 36.0 | 22.0 | 58.0 | |
| | | Total | Frecuencia observada | 64 | 39 | 103 |
| | | | Frecuencia esperada | 64.0 | 39.0 | 103.0 |

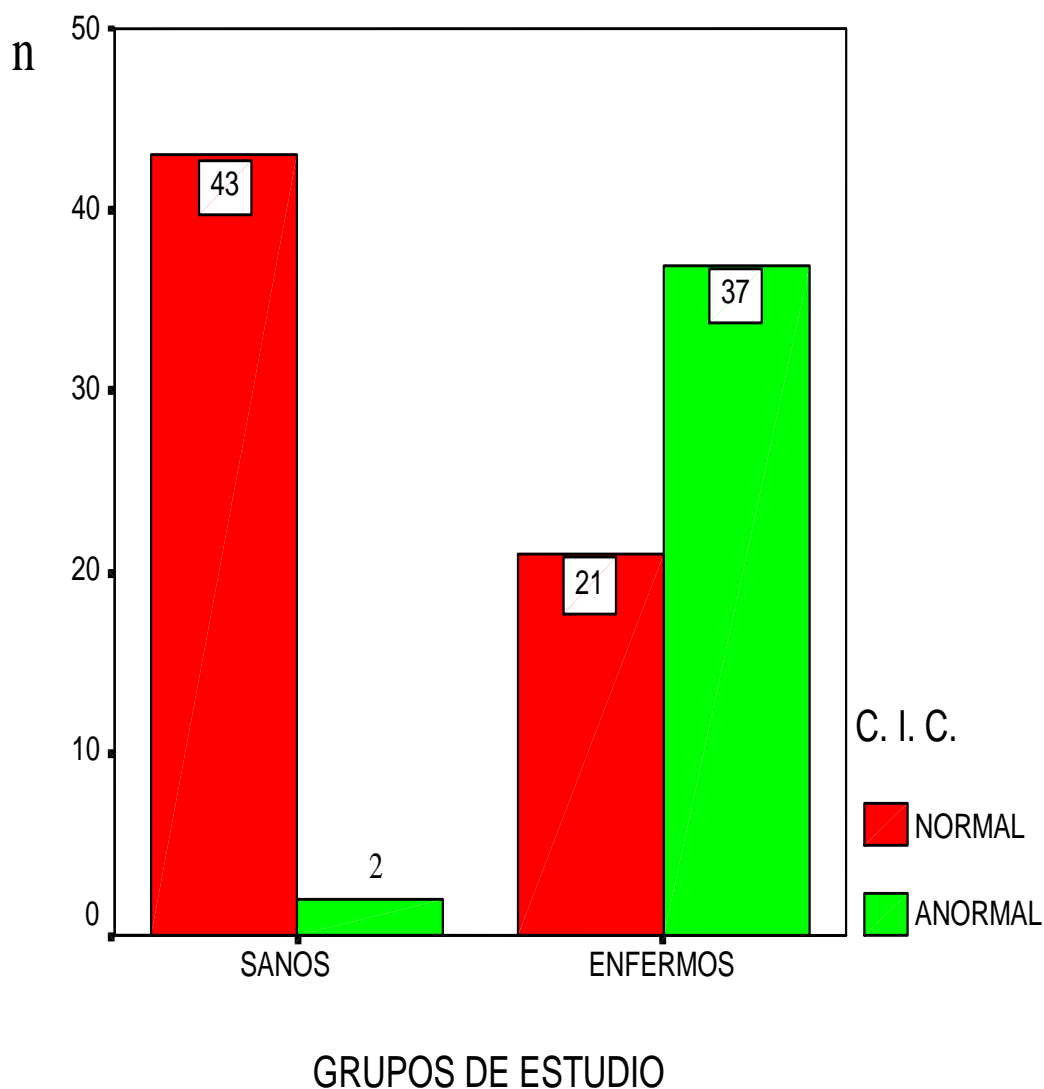
PRUEBA DE CHI-CUADRADO PARA HOMOGENEIDAD

En el Gráfico 1, observamos lo siguiente:

1. Grupo Sanos: 2 niños presentaron CIC anormal (4%).
2. Grupo Enfermos con IRA y EDA, hospitalizados en el servicio de Pediatría del H. Nacional E. Rebagliati en el semestre 99-II: 37 niños presentaron CIC anormal (64%).

Ver tablas N° 4 y 6 (Resultados)

GRAFICO 1. RESULTADO DE CIC EN 103 NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS DIVIDIDOS EN GRUPOS DE SANOS Y ENFERMOS



A continuación realizaremos una Prueba Chi-cuadrado para Homogeneidad, que en nuestro caso nos va a servir para verificar si existen diferencias significativas entre los grupos de estudio con respecto a la Citología de Impresión Conjuntival (CIC) ANORMAL (deficiencia de la vitamina A); siendo ésta, nuestra característica de interés. Para realizar la Prueba Chi-cuadrado hemos formado una Tabla de Contingencia, en la cual tendremos: por un lado (en las filas) los grupos de estudio; y por otro (en las columnas) si presentan nuestra característica de interés (CIC ANORMAL) o si no la presenta (CIC NORMAL).

En la Tabla de Contingencia, tenemos dos valores por casilla: uno que corresponde a la Frecuencia observada (conteo de la muestra), y el otro que corresponde a la Frecuencia esperada (población teórica); que se denotan por: “ O_{ij} ” y “ E_{ij} ”, respectivamente. Los cuales se van a utilizar en el cálculo del estadístico Chi-cuadrado de Pearson (χ^2); que viene dado por la siguiente expresión:

$$\chi^2 = \sum_i \sum_j (O_{ij} - E_{ij})^2 / E_{ij}$$

En donde;

i: es el número de filas de la Tabla de Contingencia; $i = 1, 2$.

j: es el número de columnas de la Tabla de Contingencia; $j = 1, 2$.

O_{ij} : es la Frecuencia observada en la i-ésima fila con la j-ésima columna.

(O_{12} : es la Frecuencia observada de la primera fila con la segunda columna = 2)

E_{ij} : es la Frecuencia esperada en la i-ésima fila con la j-ésima columna.

(E_{21} : es la Frecuencia esperada de la segunda fila con la primera columna = 36) \sum_i : indica suma desde $i=1$ hasta $i=2$.

\sum_j : indica suma desde $j=1$ hasta $j=2$.

Los E_{ij} (Frecuencias esperadas) se calculan al multiplicar el total observado de la i-ésima fila por el total observado de la j-ésima columna, y dividir este resultado entre el total total; es decir, en nuestra Tabla de Contingencia:

El primer valor esperado es 28, que resulto de efectuar la siguiente operación:

$$\begin{aligned} E_{11} &= \{ (\text{total de la primera fila}) * (\text{total de la primera columna}) \} / \\ &(\text{total total}) \\ &= \{ 45 * 64 \} / 103 = 28 \end{aligned}$$

El segundo valor esperado es 17, que resulto de efectuar la siguiente operación:

$$E_{12} = \{ (\text{total de la primera fila}) * (\text{total de la segunda columna}) \} / (\text{total total})$$

$$= \{ 45 * 39 \} / 103 = 17$$

El tercer valor esperado es 36 que resulto de efectuar la siguiente operación:

$$E_{21} = \{ (\text{total de la segunda fila}) * (\text{total de la primera columna}) \} / (\text{total total})$$

$$= \{ 58 * 64 \} / 103 = 36$$

Y el cuarto valor esperado es 22 que resulto de efectuar la siguiente operación:

$$E_{22} = \{ (\text{total de la segunda fila}) * (\text{total de la segunda columna}) \} / (\text{total total})$$

$$= \{ 58 * 39 \} / 103 = 22$$

Debido a que la estadística propuesta por Pearson es una aproximación ésta será satisfactoria siempre que ninguna Frecuencia esperada debe ser menor a 5; de ser así, no se puede aplicar la Prueba Chi-cuadrado; salvo que se agrupen dos o mas categorías hasta tener Frecuencias esperadas mayores o iguales a 5. Como en nuestra Tabla de Contingencia no hay ninguna Frecuencia esperada es menor a 5, continuaremos con calcular el estadístico Chi-cuadrado de Pearson (χ^2):

$$\chi^2 = \sum_i \sum_j (O_{ij} - E_{ij})^2 / E_{ij}$$

$$= (O_{11} - E_{11})^2 / E_{11} + (O_{12} - E_{12})^2 / E_{12} + (O_{21} - E_{21})^2 / E_{21} + (O_{22} - E_{22})^2 / E_{22}$$

$$= (43 - 28)^2 / 28 + (2 - 17)^2 / 17 + (21 - 36)^2 / 36 + (37 - 22)^2 / 22$$

$$= 37.936$$

Este estadístico (χ^2) se comporta como una distribución Chi-cuadrado con un grado de libertad. En general, los grados de libertad se calcula como el producto del número de filas menos 1 por el número de columnas menos 1; para nuestro caso tanto el número de filas como el número de columnas es dos, entonces nuestros grados de libertad es $(2-1) * (2-1) = 1$.

Con los datos de la Tabla de Contingencia hemos calculado el valor del estadístico Chi-cuadrado de Pearson que tiene una Distribución Chi-cuadrado con un grado de libertad; este valor nos va servir para calcular la probabilidad que no exista diferencia estadística significativa entre los dos Grupos Estudiados (sanos – enfermos) con respecto a la Citología de Impresión Conjuntival (CIC); esta probabilidad se denota por P_value o Valor_P y nos indica que existe Diferencia Estadística Significativa entre los Grupos de Estudio al ser menor que el nivel de significancia.

En nuestra Prueba el nivel de significancia es del 5% (0.05); es decir, que vamos a dar nuestra conclusión con un nivel de confiabilidad del 95%. Los valores se muestran a continuación:

Prueba Chi-cuadrado

| | Valor | gl | Valor_P (bilateral) |
|-------------------------|--------|----|------------------------|
| Chi-cuadrado de Pearson | 37.936 | 1 | .000 |
| N de casos válidos | 103 | | |

Por lo tanto, podemos concluir que existe diferencia estadística significativa entre el Grupo Sanos y el Grupo de Niños Enfermos con IRA y EDA del Hospital Nacional E. Rebagliati en el Semestre 99 – II, con respecto a la Citología de Impresión Conjuntival (CIC) con un nivel de confiabilidad del 95%.

PRUEBA DE INDEPENDENCIA ENTRE CIC Y NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS CON IRA Y EDA HOSPITALIZADOS EN EL SERVICIO DE PEDIATRIA DEL HOSPITAL E. REBAGLIATI EN EL SEMESTRE 99-II

Con esta prueba vamos a ver si hay o no relación de dependencia entre dos variables; utilizando una Tabla de Contingencia.

PRUEBA CHI-CUADRADO

| | Valor | gl | Valor_P |
|--------------------|--------------------|----|---------|
| Pearson Chi-Square | 1.921 ^a | 4 | .750 |

a. 5 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .72.

Con los datos de nuestra muestra y para las variables: CIC y niños enfermos menores de 5 años hospitalizados en el Hospital E. Rebagliati S. en el semestre 99-II, construiremos una Tabla de Contingencia, que se muestra a continuación:

Observamos que hay frecuencias esperadas menores que 5 (en 5 casillas); con esto no podemos continuar con la Prueba de Independencia (por mas que el computador nos arroje un valor para el P_value, no lo

CIC EN NIÑOS ENFERMOS

| | | | ENFERMEDADES | | | | | Total |
|-------|---------|----------------------|---------------------------|--------------------------------------|-----------------|-------------------|------|-------|
| | | | BRONCONEUMONIA Y NEUMONIA | SINDROME OBSTRUCTIVO BRONQUIAL AGUDO | ESTADO ASMATICO | NEUMONIA SUPURADA | EDA | |
| CIC | NORMAL | Frecuencia observada | 7 | 7 | 2 | 1 | 4 | 21 |
| | | Frecuencia esperada | 9.4 | 5.8 | 1.4 | .7 | 3.6 | 21.0 |
| | ANORMAL | Frecuencia observada | 19 | 9 | 2 | 1 | 6 | 37 |
| | | Frecuencia esperada | 16.6 | 10.2 | 2.6 | 1.3 | 6.4 | 37.0 |
| Total | | Frecuencia observada | 26 | 16 | 4 | 2 | 10 | 58 |
| | | Frecuencia esperada | 26.0 | 16.0 | 4.0 | 2.0 | 10.0 | 58.0 |

CIC EN NIÑOS ENFERMOS

| | | | ENFERMEDADES | | Total |
|-------|---------|----------------------|--------------|------|-------|
| | | | IRA | EDA | |
| CIC | NORMAL | Frecuencia observada | 17 | 4 | 21 |
| | | Frecuencia esperada | 17.4 | 3.6 | 21.0 |
| | ANORMAL | Frecuencia observada | 31 | 6 | 37 |
| | | Frecuencia esperada | 30.6 | 6.4 | 37.0 |
| Total | | Frecuencia observada | 48 | 10 | 58 |
| | | Frecuencia esperada | 48.0 | 10.0 | 58.0 |

PRUEBA CHI-CUADRADO

| | Valor | gl | Valor P |
|--------------------|-------------------|----|---------|
| Pearson Chi-Square | .075 ^b | 1 | .784 |

b. 1 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.62.

Nos damos cuenta que todavía hay una casilla con valor esperado menor que 5; por lo que el valor que nos arroja el paquete no nos indica nada ni no nos sirve para obtener alguna decisión correcta.

Por lo expuesto anteriormente solo nos limitaremos a hacer una descripción de las variables arriba mencionadas en el caso de las diferentes enfermedades.

En nuestro trabajo, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de niños sanos y el grupo de los niños enfermos con IRA y EDA respecto al resultado de la citología de impresión conjuntival ($p < 0.05$), la alta proporción de CIC **anormal** en los niños enfermos (**63.8%**) nos indica la alta sensibilidad del método de la CIC para valorar el estado fisiológico de la vitamina A en el organismo, sobre todo a nivel de órganos efectores u órganos blanco.

4.3 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

La División de Estadística e Informática del Hospital Nacional E. Rebagliati EsSalud informó que durante el primer semestre de 1998, se hospitalizaron un total de 183 niños menores de 5 años en el Servicio de Pediatría, con infecciones respiratorias agudas (IRA) y enfermedad diarreica aguda (EDA). Los diagnósticos fueron tipificados según el Código Internacional de Enfermedades (CIE - 10); para las IRA (Neumonía, Bronconeumonía, Enfermedad Obstructiva Bronquial Aguda, Bronquiolitis, asma, estado asmático, etc.) los CIE-10 fueron: J15, J18, J21, J45, J46; y para las EDA (Gastroenteritis Aguda, Enteritis por Salmonella, Enteritis por otros patógenos) los CIE-10 fueron: A09, A01, A02, A03, A04. La tasa de incidencia por 100 atendidos (TI) fue mayor para IRA con TI : 0.0225 mientras que la TI para EDA fue 0.007993.

Para nuestro estudio, se seleccionaron 103 niños: 45 niños sanos, procedentes del CEI Modelo EsSalud; y 58 niños enfermos, hospitalizados en el Servicio de Pediatría del Hospital Rebagliati EsSalud, en el período setiembre-99 a febrero-2000 (Ver Capítulo 3); habiéndose obtenido la siguiente información:

a) Sexo, Edad, Estado Nutricional y CIC en los Niños Sanos:

En relación al sexo se encontró un ligero predominio de los niños (55.6%) respecto a las niñas (44.4%).

En cuanto a la edad, el subgrupo de niños mayores de 2 años tuvo mayor casuística (64.4%).

El estado nutricional de estos niños, valorado según el indicador P/T (peso para la talla), resultó adecuado, pues todos estaban muy por encima del tercer percentil. De éstos, 14 niños (31.1%) tenían sobrepeso.

El estudio de CIC en este grupo dio como resultado que el 95.6% de estos niños tenía **CIC normal**. (Tabla 1)

TABLA N° 1 : CASOS ESTUDIADOS SEGÚN SEXO, EDAD, ESTADO NUTRICIONAL Y C.I.C . EN EL CEI MODELO DE Es Salud (NIÑOS SANOS) LIMA –1999

| PARAMETROS | | n | % |
|--------------------|------------|----|------|
| SEXO | FEMENINO | 20 | 44.4 |
| | MASCULINO | 25 | 55.6 |
| EDAD | < = 2 AÑOS | 16 | 35.6 |
| | > 2 ANOS | 29 | 64.4 |
| ESTADO NUTRICIONAL | NORMAL | 31 | 68.9 |
| | SOBREPESO | 14 | 31.1 |
| CIC | NORMAL | 43 | 95.6 |
| | ANORMAL | 2 | 4.4 |

C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

b) Sexo, Edad, Estado Nutricional y CIC en los Niños Enfermos:

En cuanto al sexo, se encontró igual proporción (50%) de niñas y niños.

El grupo etario de niños menores o igual a 2 años presentó mayor casuística (60.3%).

El estado nutricional en este grupo de niños, valorado según indicador P/T (peso para la talla), resultó adecuado o normal en 50 niños (82.3%), 2 niños (3.4%) tenían sobrepeso, y 6 niños (10.3%) estaban entre percentil 25-10.

El estudio de CIC en este grupo de niños resultó **anormal** en 63.8% de casos.(Tabla 2)

**TABLA N° 2 : CASOS ESTUDIADOS SEGÚN SEXO, EDAD, ESTADO NUTRICIONAL Y C.I.C . EN CLÍNICA PEDIÁTRICA DEL HOSPITAL REBAGLIATI (NIÑOS ENFERMOS)
LIMA -1999**

| PARAMETROS | | n | % |
|--------------------|-------------------|----|------|
| SEXO | FEMENINO | 29 | 50.0 |
| | MASCULINO | 29 | 50.0 |
| EDAD | < = 2 AÑOS | 35 | 60.3 |
| | > 2 AÑOS | 23 | 39.7 |
| ESTADO NUTRICIONAL | BAJO PESO / TALLA | 6 | 10.3 |
| | NORMAL | 50 | 82.3 |
| | SOBREPESO | 2 | 3.4 |
| CIC | NORMAL | 21 | 36.2 |
| | ANORMAL | 37 | 63.8 |

c) Resultado de CIC en relación a Sexo y Edad en los Niños Sanos:

El 4% de niños sanos presentó **CICanormal**.

En este grupo se encontró una mayor proporción de niños de sexo masculino (25 niños) respecto al femenino (20 niñas); y por edad, el subgrupo etario más numeroso fue el de mayores de 2 años (29 niños) respecto al subgrupo de menores o igual a 2 años (16 niños). Al correlacionar sexo y edad con resultados de CIC no se encontró asociación estadística significativa ($p > 0.05$).

(Tablas N° 3 y 4)

TABLA N° 3 : CASOS ESTUDIADOS SEGÚN EDAD Y C.I.C . EN NIÑOS SANOS DEL C.E.I. MODELO Es SALUD

LIMA –1999

| GRUPO ETAREO | | C.I.C. | | TOTAL |
|--------------|---|--------|---------|-------|
| | | NORMAL | ANORMAL | |
| <= 2 AÑOS | n | 15 | 1 | 16 |
| | % | 94% | 6% | 100% |
| > 2 AÑOS | n | 28 | 1 | 29 |
| | % | 97% | 3% | 100% |
| Total | n | 43 | 2 | 45 |
| | % | 96% | 4% | 100% |

$\chi^2_{(1)} (<=2a \text{ y } >2a) = 1.91$
C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

SIGNIFICACION (p) > 0.05

TABLA N° 4 : CASOS ESTUDIADOS SEGÚN SEXO Y C.I.C . EN NIÑOS SANOS DEL C.E.I. MODELO Es SALUD

LIMA –1999

| SEXO | | C.I.C. | | TOTAL |
|-----------|---|--------|---------|-------|
| | | NORMAL | ANORMAL | |
| FEMENINO | n | 19 | 1 | 20 |
| | % | 95% | 5% | 100% |
| MASCULINO | n | 24 | 1 | 25 |
| | % | 96% | 4% | 100% |
| TOTAL | n | 43 | 2 | 45 |
| | % | 96% | 4% | 100% |

$\chi^2_{(1)} (\text{FEMENINO Y MASCULINO}) = 0.26$
C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

SIGNIFICACION (p) > 0.05

d) Resultado de CIC en relación a Sexo y Edad en los Niños Enfermos:

El 64% de los niños enfermos presentó **CICanormal** . Se encontró una mayor cantidad de niños enfermos en el subgrupo de menores o igual a 2 años (35) y menor casuística en los niños mayores de 2 años (23).

En este grupo se encontró igual cantidad de niños de sexo masculino (29) y de sexo femenino (29)

Al correlacionar sexo y edad con los resultados de CIC no se encontró asociación estadística significativa ($p > 0.05$).

(Tablas N° 5 y 6)

TABLA N°5 : CASOS ESTUDIADOS SEGÚN EDAD Y C.I.C . EN NIÑOS ENFERMOS MENORES DE 5 AÑOS DEL HOSPITAL REBAGLIATI LIMA -1999

| GRUPO ETAREO | | C.I.C. | | TOTAL |
|--------------|---|--------|---------|-------|
| | | NORMAL | ANORMAL | |
| <= 2 AÑOS | n | 14 | 21 | 35 |
| | % | 40% | 60% | 100% |
| > 2 AÑOS | n | 7 | 16 | 23 |
| | % | 30% | 70% | 100% |
| TOTAL | n | 21 | 37 | 58 |
| | % | 36% | 64% | 100% |

$X^2_{(1)} (<=2a \text{ y } >2a) = 0.550$
C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

SIGNIFICACION (p) > 0.05

TABLA N° 6 : CASOS ESTUDIADOS SEGÚN SEXO Y C.I.C . EN NIÑOS ENFERMOS MENORES DE 5 AÑOS DEL HOSPITAL REBAGLIATI LIMA -1999

| SEXO | | C.I.C. | | TOTAL |
|-----------|---|--------|---------|-------|
| | | NORMAL | ANORMAL | |
| FEMENINO | n | 10 | 19 | 29 |
| | % | 34% | 66% | 100% |
| MASCULINO | n | 11 | 18 | 29 |
| | % | 38% | 62% | 100% |
| TOTAL | n | 21 | 37 | 58 |
| | % | 36% | 64% | 100% |

$X^2_{(1)} (\text{FEMENINO Y MASCULINO}) = 1.193$
C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

SIGNIFICACION (p) > 0.05

e) **Frecuencia observada según enfermedad estudiada:**

Las enfermedades más frecuentes observadas entre las infecciones respiratorias agudas (IRA) fueron ostensiblemente: neumonía, bronconeumonía (48.3%) y síndrome obstructivo bronquial agudo (20.7%).

En relación al resultado de CIC en las enfermedades de IRA y EDA: se presentó CIC **anormal** en 65% de los casos de IRA y 60% en los casos de EDA.

(Tablas N° 7 y 8)

TABLA N° 7 : CASOS DE IRA Y EDA SEGÚN SEXO, EDAD, ESTADO NUTRICIONAL DE NIÑOS ENFERMOS EN EL SERVICIO DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL REBAGLIATI

LIMA –1999

| PATOLOGIA | | BRONCO NEUMONIA Y NEUMONIA | | SINDROME OBSTRUCTIVO BRONQUIAL AGUDO | ESTADO ASMÁTICO | NEUMONIA SUPURADA | EDA | TOTAL |
|----------------------------|--------------------|----------------------------------|-------|---|--------------------|----------------------|-------|-------|
| SEXO | FEMENINO | n | 14 | 6 | 4 | 1 | 4 | 29 |
| | | % | 48.3% | 20.7% | 13.8% | 3.4% | 13.8% | 100% |
| | MASCULINO | n | 12 | 10 | | 1 | 6 | 29 |
| | | % | 41.4% | 34.5% | | 3.4% | 20.7% | 100% |
| EDAD | <= 2 AÑOS | n | 16 | 10 | 1 | 1 | 7 | 35 |
| | | % | 45.7% | 28.6% | 2.9% | 2.9% | 20.0% | 100% |
| | > 2 AÑOS | n | 10 | 6 | 3 | 1 | 3 | 23 |
| | | % | 43.5% | 26.1% | 13.0% | 4.3% | 13.0% | 100% |
| ESTADO NUTRI- CIONAL | BAJO PESO TALLA | n | 3 | 3 | | | | 6 |
| | | % | 50.0% | 50.0% | | | | 100% |
| | NORMAL | n | 22 | 12 | 4 | 2 | 10 | 50 |
| | | % | 44.0% | 24.0% | 8.0% | 4.0% | 20.0% | 100% |
| | SOBREPESO | n | 1 | 1 | | | | 2 |
| | | % | 50.0% | 50.0% | | | | 100% |

**TABLA Nº 8: RESULTADOS DE CIC DE NIÑOS ENFERMOS SEGÚN
ENFERMEDAD ESTUDIADA DEL HOSPITAL REBAGLIATI
LIMA –1999**

| ENFERMEDAD | | C.I.C. | | TOTAL |
|------------|---|--------|---------|-------|
| | | NORMAL | ANORMAL | |
| IRA | n | 17 | 31 | 48 |
| | % | 35% | 65% | 100% |
| EDA | n | 4 | 6 | 10 |
| | % | 40% | 60% | 100% |
| TOTAL | n | 21 | 37 | 58 |
| | % | 36% | 64% | 100% |

C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

f) Citología de Impresión Conjuntival (CIC) según los grupos de Sanos y Enfermos :

Se observó que los niños sanos presentaron CIC **normal** en 96% de casos y en 4% de casos de estos niños presentaron CIC anormal. Mientras que en los niños enfermos se encontró CIC **anormal** en 64% de casos y en 36% de estos niños la CIC fue normal.

Al comparar ambos grupos de sanos y enfermos con respecto al resultado de CIC se encontró diferencia estadística significativa con un nivel de confiabilidad de 95% ($p < 0.05$).

(Tabla 9)

**TABLA N° 9 : CASOS ESTUDIADOS EN GRUPOS DE NIÑOS SANOS Y ENFERMOS (MENORES DE 5 AÑOS) Y C.I.C .
CEI MODELO- HOSPITAL REBAGLIATI - Es SALUD**

LIMA –1999

| GRUPO | C.I.C. | | | Total |
|-----------------|--------|------------|------------|-------------|
| | NORMAL | | ANORMAL | |
| SANOS | n | 43 | 2 | 45 |
| | % | 96% | 4 % | 100% |
| ENFERMOS | n | 21 | 37 | 58 |
| | % | 36% | 64% | 100% |
| Total | n | 64 | 39 | 103 |
| | % | 62% | 38% | 100% |

$\chi^2_{(1)}(\text{SANOS / ENFERMOS}) = 37.936$

SIGNIFICACION (p)< 0.05

C.I.C. : Citología de Impresión Conjuntival

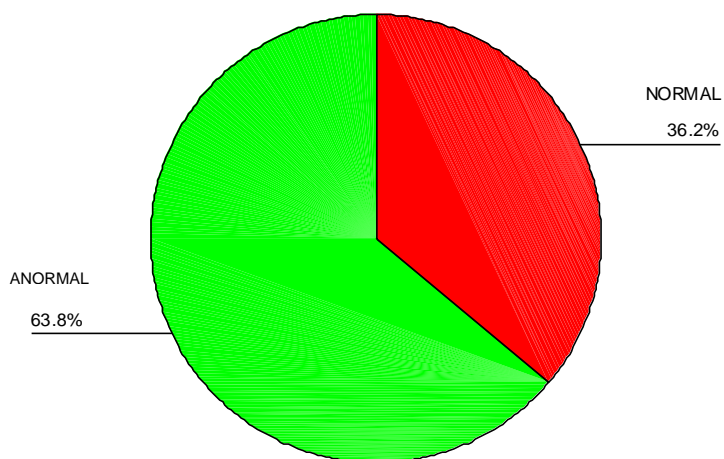
GRÁFICO 2.

Niños del Grupo Niños Sanos

Del total de 45 niños del grupo Niños Sanos: 96% tienen CIC normal

GRÁFICO 3.

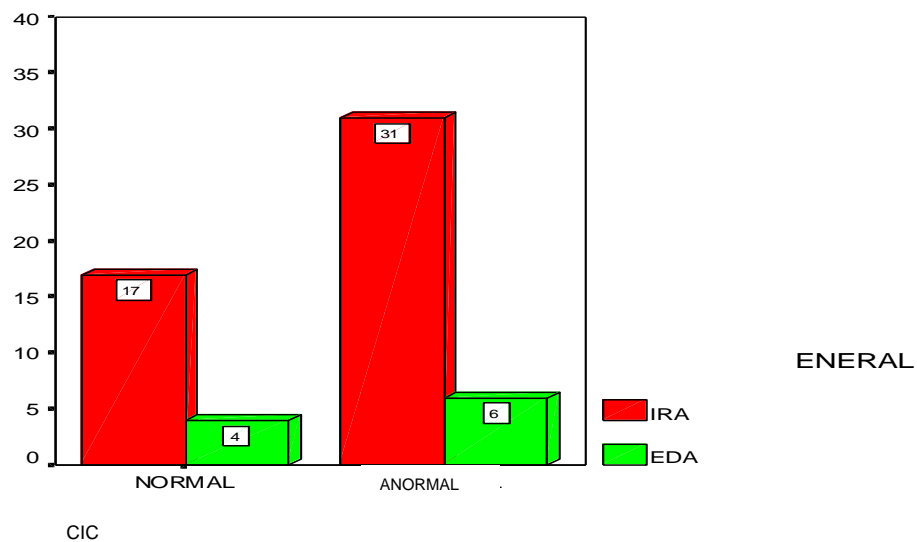
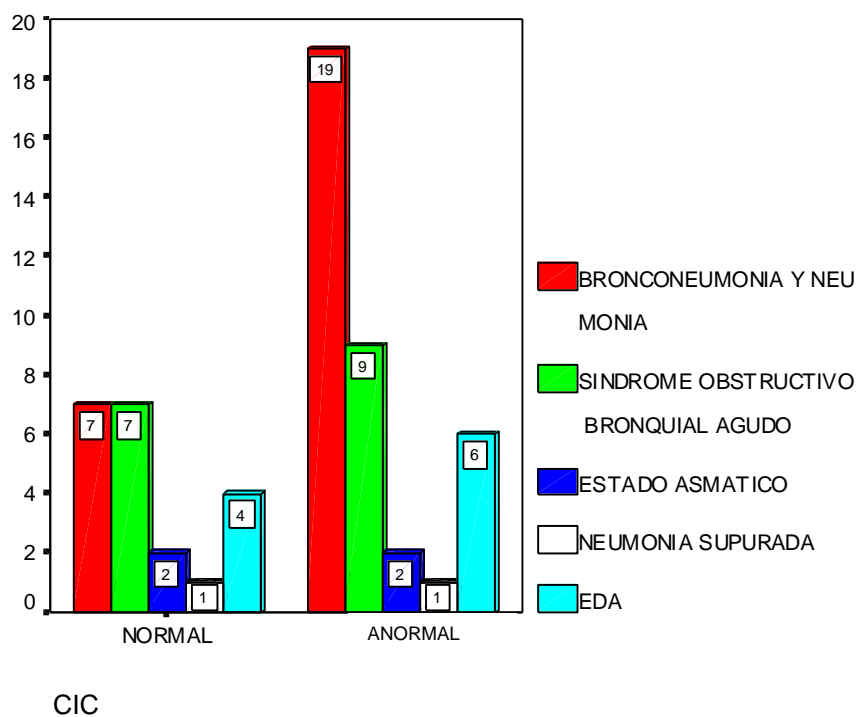
CIC DE NIÑOS HOSPITALIZADOS CON IRA - EDA



Niños Hospitalizados con IRA – EDA

Del total de 58 niños hospitalizados con IRA – EDA: 64 % de los niños presenta CIC ANORMAL

CIC EN NIÑOS HOSPITALIZADOS CON IRA Y EDA

GRÁFICO 4. GENERAL**GRÁFICO 5. POR ENFERMEDADES**

CONCLUSIONES

El estudio realizado nos permite señalar las siguientes conclusiones:

1. Los niños con infección respiratoria aguda (IRA) y enfermedad diarreica aguda (EDA) **presentaron una** alta incidencia de **anormalidad** en los resultados de la citología de impresión conjuntival (CIC).
2. La CIC anormal sugiere una relación directa con la deficiencia de vitamina a (DVA).
3. Hay un porcentaje alto (65%) de niños con DVA que desarrollan IRA.
4. Hay un porcentaje menor (60%) de niños con DVA que desarrollan EDA.
5. El hallazgo de 4% de CIC anormal en niños sanos y adecuadamente nutridos representa un riesgo de DVA subclínica.

RECOMENDACIONES

- 1.El método de CIC puede utilizarse con fines epidemiológicos y preventivos en grandes poblaciones, por su bajo costo en relación a otros métodos de evaluación del estado nutricional de la vitamina A.
2. Los niños menores de 5 años, que es una población de riesgo con alta incidencia de IRA y EDA, y desnutrición proteicocalórica asociada deberían recibir suplementación oral de retinol.
3. Se recomienda el uso de este método para continuar las investigaciones epidemiológicas de deficiencia de vitamina A, por ser aún en nuestro País y en otros en vías de desarrollo un problema de salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

- Allende Martínez, Luis Miguel (1997). “Efectos del Retinol (vitamina A) en la activación de Linfocitos T humanos y sus implicancias terapéuticas”. Tesis Doctoral Universidad Complutense. Madrid.
- Amaya Castellanos D & Gomez G (1986) Deficiencia de la Vitamina A y estado nutricional antropométrico en niños marginales urbanos y rurales en el estado de Zulia. Zulia: Universidad de Zulia.
- Amedee-Manesme O, Wittpenn J, & Sommer A (1988). Impression Cytology detects subclinical Vitamin A Deficiency. Am J Clin Nutr 47: 875-878.
- Benguigui, Y. (1993). *El control de las IRA : Logros y resultados*. Washington DC: OPS.
- Chen H, Z. Q. (2007). *Vitamina A para la prevención de las infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores en los niños de hasta siete años de edad*. Oxford, Inglaterra.
- CIE-10. (1997). *Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas relacionados con la Salud*. Washington: OPS/ OMS.
- Castejon, Haydee et al (2001) Prevalencia de Deficiencia subclínica de vitamina A y desnutrición en niños marginales de Maracaibo-Venezuela. Arch. Latinoam. Nutr 51(1): 25-32
- Cochran, William G. (1987) *Técnicas de Muestreo” Compañía Editorial Continental SA*. México.

- Gadomsky A, Kjolhede C & Wittpenn J (1989) Conjuntival Impression Cytology (CIC) to detect subclinical Vitamin A Deficiency: Comparison of CIC with biochemical assessments. *Am J Nutr.* 49: 495-500.
- Gipson Y & Joyce N (2000). Principles and Practice of Ophthalmology. USA: Saunders Company Vol 2: 612-628.
- International Vitamin A Consultative Group. IVACG. (1989). *La Sintomatología de la Deficiencia de Vitamina A y su Relación con la Nutrición Aplicada*. Washington DC.
- Kjolhede C, Gadomsky A, & Wittpenn J. (1989). Conjuntival impression cytology : Feasibility of a field trial to detect subclinical vitamin A deficiency. *Am J Clin Nutr.* 49: 490 - 494.
- Leal, Yolimar; Castejon, Haydee; Romero, Tania (2004). Valores Séricos de Citocinas en niños con desórdenes por Deficiencia de Vitamina A. *Invest. Clin. Sept.* 45 (3): 243-256
- Leal JY, Castejon HV, Romero T et al. (2006) Serum levels of Interferon Gamma and Interleukine-10 in anemic children with vitamin A Deficiency. *Arch. Latinoam Nutr, dec;* 56 (4): 329-334
- Lizasoain, L. y. (1999.). *SPSS para Windows*. Madrid : Paraninfo .
- McLaren DS & Kraemer K (2012). Manual on Vitamin A Deficiency Disorders (VADD), Sight and Life Press, Third edition.
- Martínez, C. J. (2005). NEUMONÍAS: CONCEPTO, CLASIFICACIÓN. *NEUMOMADRID*, 9.

- Moreira, E., Valdes A & col (1996). *Vitamina A, citologia conjuntival y complicaciones clinicas en niños hospitalizados por neumonia*. Bol Oficina Sanit Panam 121 (4).
- Natadisastra, G., Wittpenn J. & Sommer A (1988). *Impresion Cytology: a practical index of vitamin A status*. Am J Clin Nutri. 48 695-701
- Natadisastra G, Wittpenn J & ass. (1987) Impression Cytology for detection of Vitami A Deficiency . Arch Ophthalmol 105: 1224-1228.
- NCHS. (1979). physical growth: National Center for Health Statics percentiles. *American Journal Clin Nutr*, 607-629.
- Olson James A. (1997). *Vitamina A en Conocimientos Actuales sobre Nutrición* . Washington DC Publicación Científica N° 565 OPS.
- Ross Catharine A. (2006). *Vitamin A and carotenoids*. Philadelphia, Lippincot&Wilkins.
- Services U. D. (8 de febrero de 2011). *medlineplus*. Recuperado el 3 de marzo de 2011, de <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000141.htm>
- Sommer, A. (1996). *Vitamin A Deficiency: Health , Survival and Vision*. New York, Oxford University Press.
- Undergood BA. & Olson JA. (1993) A brief guide to current methods of assessing Vitamin A status. Washington DC. IVACG.
- Villavicencio Núñez M. (1996). *Avances de topicos de bioquímica relacionados con la medicina*. Lima: CONCYTEC.

- Vital. (1991). *Vitam A Fiel Suport Project*. Puerto Rico: Segundo Taller Regional sobre Viamina A en America Latina y el Caribe.
- Wittpenn J.R. et al. (1986). *Detection of early Xerophthalmia by impresion cytology*. Arch Ophthalmol. Vol 104.
- Wittpenn J. & ass. (1988). *Assessment of vitamin A status by impresion cytology. Training Manual, The John Hopkins University school of Medicine. International Center for Epidemiologic and Preventive Ophthalmology (ICEPO) Baltimore MD. USA pp 1-27.*

ANEXOS

FLUXOGRAMA DE INTERPRETACION DE LAS MUESTRAS

1. ¿Hay adecuado material conjuntival cubriendo por lo menos una cuarta parte de un campo microscópico?

Evaluar la muestra contenida en el portaobjeto bajo objetivo 4x del microscopio y observar la presencia de células epiteliales, células goblet y manchas de mucina, distribuidas en el área de papel que estuvo en contacto (zona de contacto) con la conjuntiva en forma uniforme que permitan su interpretación en por lo menos un cuarto de uno o más campos de la muestra. Verificar a 100x.

2. Si la muestra tiene un adecuado contenido de células, la siguiente pregunta es ¿Hay por lo menos 5 células goblet?

Ejemplos:

Abundantes células goblet en un fondo de células epiteliales normales (40x) NORMAL.

Más de 5 células goblet (100x) NORMAL.

Más de 5 células goblet, y manchas de mucina (40x) NORMAL.

3. Si hay menos de 5 células goblet en la muestra, siguiente pregunta ¿Hay alguna mancha de mucina?
 - a. Grandes manchas de mucina (400x) Siguiente pregunta.
 - b. No hay manchas de mucina, se observa células epiteliales alargadas con núcleo pequeño (400x) ANORMAL.
 - c. No hay manchas de mucina, se observa células de doble grosor que dan una coloración más intensa a las células, no confundir éstas con células goblet (100x) ANORMAL.
 - d. No hay manchas de mucina, células epiteliales rotas (100x) ANORMAL.

- e. No hay manchas de mucina, células epiteliales con índice núcleo citoplasma bajo. (400x) ANORMAL.
4. Si hay manchas de mucina, la pregunta final es: ¿Las manchas de mucina cubren por lo menos 25% de la zona de contacto?
- a. Hay abundantes manchas de mucina que cubren más de 25% de la zona de contacto. (100x) NORMAL.
 - b. Manchas de mucina que cubren más de 25% de la zona de contacto. (100x) NORMAL.
 - c. Manchas de mucina en una esquina de la zona de contacto, pero no cubren el 25% de ésta. (100x) ANORMAL.
 - d. Muy pocas manchas de mucina y rayas en el centro de la zona de contacto, pero no cubren el 25% de ésta. (40x) ANORMAL.

NOTA.

Para contestar las preguntas de guía de interpretación, uno debe examinar totalmente la zona de contacto (área de papel que contactó con la conjuntiva); es decir se leerá la lámina moviéndola en todos los campos. Se evitará la lectura del borde del papel, ya que la mucina contenida frecuentemente procede de conjuntiva palpebral.

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

| N° | N° de SS Autogenerado | Nombres y Apellidos | Edad | Sexo | | Peso | Talla | Nivel Nutricional | Patología enfermedades | | Nivel Sérico de Retinol | CIC | |
|----|--------------------------|------------------------|------|------|---|------|-------|----------------------|---------------------------|----|----------------------------|-----|-----|
| | | | | M | F | | | | Kg | cm | | P/T | IRA |
| | | | años | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |